

00563



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO DE LA BIODISPONIBILIDAD ABSOLUTA DEL DICLOFENAC  
SÓDICO EN RATAS SOMETIDAS A UNA LESIÓN TRAUMÁTICA AGUDA  
EN LA MÉDULA ESPINAL

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN FARMACIA  
(BIOFARMACIA)

P R E S E N T A :

BIOL. REBECA SALAS ROMERO

TUTOR: DRA. PATRICIA GARCÍA LÓPEZ

AÑO: 2004





Universidad Nacional  
Autónoma de México



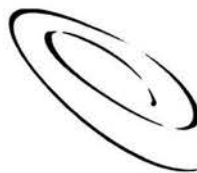
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA



**BIÓL. FRANCISCO INCERA UGALDE**

**Jefe de la Unidad de Administración del Posgrado**

**Presente**

Me es grato informarle que la alumna **REBECA SALAS ROMERO**, con número de cuenta 96812602 y expediente 5961168, presentará su examen para optar por el grado de Maestro en Farmacia (Biofarmacia), quien defenderá el proyecto de investigación titulado: **"Estudio de la biodisponibilidad absoluta del diclofenaco sódico en ratas sometidas a una lesión traumática aguda en la médula espinal"**, ante el siguiente jurado:

Presidente	Dr. Gilberto Castañeda Hernández	CINVESTAV
Vocal	Dr. Héctor Antonio Ponce Monter	Facultad de Medicina, UNAM
Secretario	Dra. Isabel Aguilar Laurents	Facultad de Química, UNAM
Primer suplente	Dr. David Quintanar Guerrero	Facultad de Química, UNAM
Segundo suplente	Dra. María Josefa Bernad Bernad	Facultad de Química, UNAM

**Nota: Se recuerda a los miembros del jurado que el plazo máximo para revisión de la tesis es de 30 días naturales a partir de la recepción de la misma.**

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cd. Universitaria, D.F. a 02 de junio de 2004.

**Atentamente.**

**DR. MIGUEL COSTAS BASÍN**  
Coordinador del Programa

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: REBECA SALAS ROMERO

FECHA: 13/08/04

FIRMA: Rebeca Salas

c.c.p. Integrantes del Jurado  
Interesado  
Expediente  
Sección Escolar de la Coordinación de Posgrados, Facultad de Química

---

---

## **DEDICATORIA**

A Carlos por su apoyo incondicional

A Carlitos y Emiliano por motivarme en la realización de este trabajo

A mis padres

---

---

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Patricia García López por su tiempo, asesoría y paciencia que hicieron posible la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado.

A los integrantes del jurado por el tiempo dedicado para la revisión de esta tesis.

---

---

---

**Esta tesis se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación del Proyecto Camina, A.C. y en la Sección Externa de Farmacología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional**

---

---

---

---

## INDICE

	Pág.
Lista de Abreviaturas.....	<i>i</i>
Lista de Figuras.....	<i>iii</i>
Lista de Tablas.....	<i>iv</i>
Resumen.....	2
Introducción	
1. Generalidades sobre farmacocinética.....	4
1.1 Absorción.....	5
1.2 Biodisponibilidad.....	6
1.3 Distribución.....	8
1.4 Eliminación.....	9
2. Lesión en Médula Espinal.....	12
3. Modelos animales de lesión en médula espinal.....	21
4. Fármacos cuya farmacocinética se encuentra alterada después de una lesión traumática de médula espinal.....	23
5. Diclofenac sódico.....	25
5.1 Farmacocinética.....	26
5.2 Farmacodinamia.....	28
5.3 Mecanismo de acción del diclofenac sódico.....	28
5.4 Estabilidad.....	29
Justificación.....	30
Planteamiento del Problema.....	31
Objetivo General.....	31
Objetivos Particulares.....	31
Material y Métodos	
1. Estudio Experimental.....	33
2. Métodos de anestesia.....	34



---

---

3. Métodos de laminectomía y contusión en médula espinal.....	34
4. Criterios de inclusión.....	35
5. Criterios de exclusión.....	35
6. Administración del fármaco.....	35
7. Extracción.....	36
8. Condiciones cromatográficas.....	37
9. Calibración.....	37
10. Validación.....	37
11. Reactivos.....	38
<b>Resultados</b>	
1. Validación del sistema.....	40
1.1 Linealidad del sistema.....	40
1.2 Precisión del sistema.....	41
1.3 Exactitud del sistema.....	42
2. Validación del método.....	43
2.1 Linealidad del método.....	43
2.2 Precisión del método.....	45
2.3 Exactitud del método.....	46
3. Análisis Farmacocinético.....	47
3.1 Administración Oral.....	48
3.2 Administración Intramuscular.....	49
3.3 Administración Intravenosa.....	50
3.4 Biodisponibilidad Absoluta.....	51
3.5 Comparación entre vías de administración.....	51
Discusión.....	52
Conclusiones.....	61
Bibliografía.....	63

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Area bajo la curva del curso temporal de las concentraciones sanguíneas
C <sub>max</sub>	Concentración máxima alcanzada después de la administración de un fármaco
C <sub>max</sub> /ABC	Velocidad de absorción
C <sub>ss</sub>	Concentración en el estado estacionario
CV	Coefficiente de variación
Cl	Depuración
ee	Error estándar
E.I.	Estándar interno
F	Biodisponibilidad
g	gramos
HPLC	Cromatografía líquida de alta precisión
i.v.	Vía intravenosa
i.m.	Vía intramuscular
LTME	Lesión traumática de médula espinal
mg/kg	miligramos por kilogramo
ml/min	mililitros por minuto
µg/ml	microgramos por mililitro
p	Probabilidad de que un fenómeno ocurra al azar
p.o.	Por vía oral
r	Coefficiente de correlación
r <sup>2</sup>	Coefficiente de correlación de Pearson
rpm	Revoluciones por minuto

---

---

Tmax	Tiempo en que se alcanza la concentración máxima
t ½	Vida media
Vd	Volumen de distribución
v/v	Composición de una mezcla expresado volumen a volumen

---

---

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. Sistema nervioso autónomo y sus principales subdivisiones	
1a. División parasimpática del sistema nervioso autónomo.....	14
1b. División simpática del sistema nervioso autónomo.....	15
2. Estructura química del diclofenac sódico y de sus principales metabolitos.....	26
3A. Cromatograma de la fase móvil sin fármaco.....	40
3B. Cromatograma típico de la fase móvil adicionada con diclofenac sódico y el estándar interno.....	40
4. Gráfica representativa de la linealidad del sistema.....	41
5A. Cromatograma de extractos sanguíneos libres de fármaco.....	43
5B. Cromatograma típico de extractos sanguíneos adicionados con diclofenac sódico y el estándar interno.....	43
6. Gráfica representativa de la linealidad del método.....	44
7. Concentración de diclofenac después de la administración oral a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 y a ratas control. ....	48
8. Concentración de diclofenac después de la administración intramuscular a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 y a ratas control. ....	49
9. Concentración de diclofenac después de la administración intravenosa a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 y a ratas control.....	50

---

---

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Costos de los servicios de salud después de una lesión en médula espinal.....	13
2. Diseño experimental.....	33
3. Precisión del sistema.....	42
4. Exactitud del sistema.....	42
5. Precisión intradía del método.....	45
6. Precisión interdía del método.....	45
7. Exactitud intradía del método.....	46
8. Exactitud interdía del método.....	46
9. Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de la administración oral a ratas con lesión a nivel T8 y a ratas control.....	48
10. Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de la administración intramuscular a ratas con lesión a nivel T8 y a ratas control.....	49
11. Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de la administración intravenosa a ratas con lesión a nivel T8 y a ratas control.....	50
12. Biodisponibilidad absoluta para cada vía de administración.....	51
13. Comparación entre vías de administración.....	51

---

---

# RESUMEN

---

La lesión en médula espinal es considerada como una patología de graves repercusiones económicas, físicas y psicológicas no sólo para el individuo que la padece sino también para el sistema de salud y para la sociedad en general. A pesar de ello todavía existe un rezago en cuanto a la calidad de la atención a los pacientes ya que muchos de los eventos fisiológicos y bioquímicos que se presentan después de la lesión aún no han sido bien entendidos y controlados.

No es sino hasta hace algunas décadas que se empezaron a estudiar los cambios en la farmacocinética de algunos de los fármacos empleados con mayor frecuencia en estos pacientes, encontrándose diferencias en cada uno de los procesos cinéticos (absorción, distribución, metabolismo y excreción), haciéndose necesario considerar un ajuste de dosis en esta subpoblación. Es por ello que en el presente trabajo se evalúa la biodisponibilidad absoluta (F) del diclofenac sódico, un antiinflamatorio no esteroideo, en ratas sometidas a una lesión traumática en la médula espinal en su fase aguda, mediante un modelo de contusión previamente estandarizado.

Para determinar la biodisponibilidad absoluta se establecieron 3 grupos experimentales, uno para cada vía de administración (oral, intramuscular e intravenosa) a los que se lesionó a nivel de T8, y 3 grupos control a los que se les sometió únicamente a laminectomía; 24 hrs. después de la cirugía y después de la administración de una dosis única de 10 mg/kg de diclofenac se tomaron muestras sanguíneas a los 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 240 y 360 minutos. Posteriormente las muestras de sangre total, previa extracción, se cuantificaron en HPLC con detección electroquímica utilizando como estándar interno al naproxén sódico. Con los resultados obtenidos se construyeron gráficas del perfil farmacocinético del diclofenac y a partir de éstas se determinó la concentración máxima (C<sub>max</sub>), el tiempo en alcanzar la concentración máxima (T<sub>max</sub>), el área bajo la curva (ABC), la vida media (t<sub>1/2</sub>), la velocidad de absorción (C<sub>max</sub>/ABC) y la biodisponibilidad absoluta (F). Los resultados se evaluaron mediante la prueba t-Student (p<0.05) para datos no pareados con el fin de determinar diferencias significativas de los grupos experimentales con respecto a sus grupos control.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para el ABC, t<sub>1/2</sub>, y C<sub>max</sub>/ABC después de la administración intramuscular, diferencias que parecen ser debidas a alteraciones en la fase de eliminación del fármaco, lo cual provoca una acumulación del mismo y aumento en los niveles sanguíneos. Así mismo se observa un aumento en la biodisponibilidad de las ratas lesionadas comparadas con su grupo control, la cual no es estadísticamente significativa, dicho aumento puede ser debido a la alta variabilidad interindividual observada en los grupos y a los valores obtenidos para el ABC.

Después de la administración por vía oral se observa un aumento de los niveles de ABC, C<sub>max</sub> y F en las ratas lesionadas, lo cual no es estadísticamente significativo. Este aumento puede estar relacionado con una posible disminución en el flujo sanguíneo hepático el cual puede provocar una reducción en el metabolismo del diclofenac durante el efecto de primer paso aumentando así los niveles de este fármaco.

En los resultados obtenidos para la administración intravenosa no se observan diferencias estadísticamente significativas, aunque sí una tendencia a aumentar los valores del ABC y C<sub>max</sub> en las ratas lesionadas lo que también puede estar relacionado con la disminución en la eliminación del diclofenac debido a las alteraciones fisiológicas presentes después de la LTME.

Es necesario seguir evaluando los cambios fisiológicos y bioquímicos presentes después de una lesión en médula espinal y los cambios que se producen en el comportamiento farmacológico de los fármacos que comúnmente se administran a estos pacientes, primero en modelos animales que permitan establecer las bases para estudios clínicos con el fin de establecer nuevas estrategias en la terapéutica que permitan mejorar la calidad de vida en estos individuos.

---

---

---

## **ANTECEDENTES**



---

---

## 1. GENERALIDADES SOBRE FARMACOCINÉTICA

El objetivo de una terapia farmacológica es la rápida distribución y mantenimiento de los niveles terapéuticos del fármaco en los tejidos blanco. Para lograr este objetivo se debe reconocer que la velocidad para alcanzar este primer impulso de la acción farmacológica, así como la intensidad y la duración del efecto están controlados por tres vías fundamentales de movimiento del fármaco en el cuerpo. Primero, la absorción desde el sitio de administración permite la entrada, directa o indirectamente, del agente terapéutico en el plasma. Segundo, el fármaco debe abandonar el torrente sanguíneo y distribuirse en los fluidos intracelular e intersticial. Tercero, un proceso que consiste principalmente en la excreción urinaria y/o metabolismo hepático causa que el fármaco y sus metabolitos sean eliminados del organismo. La farmacocinética estudia estos procesos así como la relación con la intensidad y el curso del tiempo del efecto farmacológico (terapéutico y toxicológico) del fármaco (Harvey R. y cols., 1992).

Las consideraciones farmacocinéticas juegan un papel muy importante en el diseño de regímenes de dosificación en farmacoterapia, incluyendo el monitoreo terapéutico de fármacos, investigaciones farmacológicas y clínicas, y en el diseño de formas farmacéuticas para fármacos que aparentemente presentan propiedades farmacocinéticas desfavorables, debido a que es posible obtener una respuesta farmacológica o toxicológica cuando la concentración del fármaco alcanza un nivel mínimo en el sitio de acción (Gibaldi, 1991).

---

---

## 1.1 Absorción.

Después de la administración de un fármaco éste puede ser absorbido desde el tracto gastrointestinal por difusión pasiva o por transporte activo. La difusión pasiva es el paso del fármaco desde una región de alta concentración a otra de menor concentración; no es necesario ningún acarreador, es no saturable y muestra una especificidad estructural baja. La mayoría de los fármacos atraviesan las membranas celulares por este mecanismo.

En el transporte activo el fármaco atraviesa las membranas mediante una proteína acarreadora y muestra cinética de saturación. Depende de energía en forma de ATP para su proceso, y mediante este mecanismo el fármaco puede desplazarse en contra de un gradiente de concentración.

El pH del medio puede ser un factor importante para la adecuada absorción de un fármaco. De hecho las moléculas de los fármacos solo son permeables si se encuentran sin una carga neta; la concentración efectiva de la forma permeable de cada fármaco en su sitio de absorción está determinada por la concentración relativa de las formas cargadas y no cargadas, y la relación entre las dos formas está determinada por el pH del sitio de absorción y por la fuerza de la base o del ácido débil, definida por el pK. Así, para un ácido débil la forma protonada sin carga puede permear a través de las membranas, al igual que una base sin protón y sin carga (Harvey R. y cols., 1992).

Otros factores que pueden influir en la absorción son: el flujo sanguíneo en el sitio de absorción, el área superficial disponible, el tiempo de contacto en la superficie de absorción y la presencia de promotores o retardadores de la absorción.

---

---

---

---

## 1.2 Biodisponibilidad

Una medida del grado de absorción de un fármaco es la biodisponibilidad (F). Se trata de una de las áreas de estudio de la farmacocinética que indica la cantidad y la velocidad con que un fármaco administrado alcanza la circulación general (Rowland y Tozer, 1995). Así mismo, estudia el efecto del primer paso para explicar la diferencia en potencia cuando un fármaco es administrado extravascularmente comparado con uno administrado intravenosamente.

La biodisponibilidad puede verse alterada por diversas causas como: la forma farmacéutica, la permeabilidad del fármaco, el flujo sanguíneo, las reacciones competitivas así como el tipo de alimento, la edad del individuo, diferentes estados patológicos, el metabolismo de primer paso, etc.

El flujo sanguíneo juega un papel muy importante ya que determina en gran medida el grado de absorción del fármaco afectando así a la biodisponibilidad. En el caso de una administración oral el fármaco tiene que pasar por el tracto gastrointestinal que tiene una gran irrigación sanguínea sobretodo a nivel intestinal, lo que facilita la absorción del fármaco desde este sitio (Rowland y Tozer, 1995).

La absorción de un fármaco, después de una administración oral, también depende de su permeabilidad y solubilidad; si se trata de un fármaco poco permeable no alcanzará a absorberse por completo en el tiempo de tránsito promedio (2-4 h) disminuyendo la biodisponibilidad.

Cualquier reacción que compita con la absorción puede reducir la biodisponibilidad oral

---

---

de un fármaco. Las reacciones pueden ser enzimáticas, llevadas a cabo por las enzimas del epitelio intestinal y de la microflora del intestino grueso, o no enzimáticas. Los productos de las reacciones por lo general son inactivos o menos potentes que el fármaco padre.

El efecto de primer paso también puede disminuir la biodisponibilidad ya que el fármaco es metabolizado en el hígado antes de alcanzar la circulación general y, como ya se mencionó, los metabolitos por lo general son inactivos; cuando esto ocurre la dosis oral del fármaco debe ser mayor que la dosis intramuscular o intravenosa para poder alcanzar el mismo efecto terapéutico. Por otro lado existen los llamados profármacos que al ser metabolizados dan lugar a metabolitos activos que en algunos casos presentan mayor potencia que el fármaco padre.

Después de su administración oral el fármaco debe pasar del lumen gastrointestinal hacia la pared del intestino, y de ahí al hígado antes de llegar a la circulación general. Una vez allí es distribuido por todo el organismo.

La absorción de fármacos en solución a partir del músculo y del tejido subcutáneo está limitado, entre otras causas, por la perfusión, por lo que un incremento en el flujo sanguíneo acelera la absorción y afecta directamente la biodisponibilidad.

La biodisponibilidad absoluta puede ser calculada a partir de una dosis intravenosa de referencia (por definición la biodisponibilidad de una dosis intravenosa es del 100%). El método usual es el de administrar a un grupo de voluntarios dosis intravenosas y dosis extravasculares (oral, intramuscular, etc.) de un fármaco en diferentes ocasiones. El cálculo se lleva a cabo

---

---

utilizando las áreas bajo la curva de la concentración plasmática contra el tiempo después de ambas dosis por medio de una simple proporción:

$$F = \frac{\text{ABC extravascular}}{\text{ABC intravenosa}}$$

### 1.3 Distribución.

La distribución, otro de los procesos farmacocinéticos, se refiere a la transferencia reversible del fármaco desde un lugar a otro dentro del cuerpo, lo que ocurre en grado y proporción variables (Rowland y Tozer, 1995). Existen varios factores que determinan el patrón de distribución de un fármaco, como el depósito del mismo en un tejido por la sangre, la capacidad para atravesar membranas y el grado de partición en tejido graso.

Al igual que la absorción, la distribución puede estar limitada por la perfusión o por la permeabilidad. La perfusión limitada ocurre cuando las membranas del tejido no presentan obstáculo para la distribución del fármaco o de partículas pequeñas, por lo que este proceso depende directamente del flujo sanguíneo. La permeabilidad limitada depende de la estructura del fármaco, si es hidrofóbico se disolverá en la membrana lipídica del tejido y permeará fácilmente; si es hidrofílico será menos permeable y utilizará canales acuosos para ingresar a la célula.

El grado de distribución se define mediante el volumen aparente de distribución (Vd) que se refiere a un volumen hipotético de fluido en que el fármaco puede diseminarse. El volumen de distribución puede variar debido a factores como la unión a tejidos y a proteínas plasmáticas.

---

---

La unión a proteínas plasmáticas es el factor más importante, y es una función del grado de afinidad de la proteína por el fármaco. Está caracterizada por la constante de asociación ( $K_a$ ). Debido a que el número de sitios de unión de una proteína es limitado, la unión también depende de la concentración molar tanto de la proteína como del fármaco.

#### **1.4 Eliminación.**

El proceso de la eliminación ocurre por excreción y metabolismo. La excreción se da principalmente por vía renal, mientras que el metabolismo ocurre en gran medida en el hígado.

El metabolismo es un mecanismo para eliminar con mayor facilidad del cuerpo compuestos y fármacos, y para producir compuestos activos a partir de profármacos. Las reacciones del metabolismo se dan en dos fases dependiendo del tipo de reacción: fase I reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, y fase II reacciones de conjugación. Las principales enzimas responsables de la oxidación y reducción de fármacos pertenecen a la familia del citocromo P450. La capacidad metabólica puede modificarse al menos por tres parámetros principales: el flujo sanguíneo, que participa en el transporte del fármaco al órgano; el grado de unión a proteínas expresado como la fracción libre del fármaco en la sangre, y que influye en la disposición del fármaco a las enzimas metabólicas; y la capacidad intrínseca de las enzimas hepáticas para metabolizar el fármaco (Rowland y Tozer, 1995).

Un parámetro importante que permite evaluar la capacidad de un órgano para eliminar un fármaco es la depuración ( $Cl$ ), y se define como el factor de proporcionalidad que relaciona el

---

---

grado de eliminación de un fármaco con su concentración plasmática. La depuración total de un fármaco es igual a la suma de la depuración en cada uno de los órganos involucrados. El índice de extracción (E) indica la proporción de fármaco que es eliminado del órgano.

La eliminación de fármacos a partir de los riñones se lleva a cabo por 3 mecanismos: filtración glomerular, secreción tubular y reabsorción. Para tener acceso al proceso de filtración el fármaco debe estar en forma libre (no unido a proteínas) y tener un peso molecular pequeño (menor a 20,000 g/mol); la liposolubilidad y el pH no influyen en el paso del fármaco al filtrado glomerular.

La secreción ocurre en el túbulo proximal por dos mecanismos de transporte activo, uno para aniones y otro para cationes; estos dos mecanismos tienen una baja especificidad y pueden transportar muchos compuestos por lo que puede establecerse un fenómeno de competencia. El porcentaje de secreción de un compuesto depende de la concentración del fármaco libre (no unido a proteínas) siendo directamente proporcional a la misma.

El fenómeno de reabsorción depende de las propiedades del fármaco como su polaridad, estado de ionización y peso molecular, así como del flujo y pH urinario. Conforme un fármaco se mueve en los túbulos, su concentración aumenta hasta exceder la del espacio perivascular; si el fármaco no está cargado difunde fuera del lumen de la nefrona. El flujo urinario puede tener un efecto importante en la depuración renal solo si el fármaco es reabsorbido en su mayoría; así mismo la depuración renal es directamente proporcional a la cantidad de fármaco libre (*fu*) siempre y cuando el flujo urinario sea constante.

---

La depuración también se relaciona con la vida media ( $t_{1/2}$ ) de un fármaco, que se define como el tiempo que tarda en eliminarse el 50% de la dosis del fármaco administrado. La vida media se relaciona de forma inversa con la depuración y de forma directa con el volumen de distribución:

$$t_{1/2} = \frac{0.693 V_d}{Cl_{total}}$$

Si el volumen de distribución aumenta la vida media se hace más larga; un volumen muy grande indica que el fármaco está fuera del compartimiento plasmático y que no se encuentra disponible para su excreción renal.

La vida media de un fármaco puede verse modificada por diversos factores. La disminución en el índice de extracción por alguna patología renal, una falla cardíaca, un shock cardiogénico, hemorragias, la disminución del metabolismo por inhibición de un fármaco co-administrado, así como el desplazamiento del fármaco de su sitio de unión con las proteínas por otro fármaco son todas causas de un aumento en la vida media, por lo que en la práctica clínica se hace necesario un ajuste en el esquema de dosificación (Harvey R. y cols., 1992).



---

---

## 2. LESIÓN EN MÉDULA ESPINAL.

Un estado patológico donde se han documentado alteraciones en la farmacocinética, incluyendo la biodisponibilidad, es la lesión en médula espinal (Segal JL., Pathak M., 2001). Aunque se han investigado las variaciones con algunos fármacos a nivel clínico y preclínico, aún no se comprende totalmente el mecanismo de acción involucrado en las alteraciones de la absorción, distribución, metabolismo y eliminación después de este tipo de lesiones.

Las lesiones en médula espinal son un problema multimillonario en los Estados Unidos y alrededor del mundo. Se considera como una enfermedad catastrófica debido a la alta mortandad e impacto económico que conlleva (Green B. y cols., 1987).

En México se ha reportado una incidencia de 12 personas por millón para 1990, datos correspondientes al Distrito Federal (Ibarra LG. y cols., 1990); en los Estados Unidos varía de acuerdo a la fuente, sin embargo de acuerdo a datos emitidos en Mayo del 2001 la mayoría de las lesiones son resultado de accidentes vehiculares (38.5%), seguidos de actos de violencia (24.5%), caídas (21.9%), actividades deportivas (7.2%) y otras causas (7.9%) (Spinal Cord Injury, Facts and Figures at a Glance Mayo, 2001). El número de personas en los Estados Unidos con lesión en la médula espinal está entre 721 y 906 por millón de habitantes, de ellas el 55% corresponde a personas con edades entre los 16 y 30 años y el 81.65% son varones. Estos datos indican las graves repercusiones económicas que conlleva una lesión en médula espinal ya que las personas involucradas se encuentran en plena edad productiva. Así mismo, el costo de los servicios de salud proporcionados a estos pacientes son muy altos:

Tabla 1. Costos de los servicios de salud después de una lesión en médula espinal.

Severidad de la lesión	Gasto Promedio Anual en dólares americanos (año 2000)	
	Primer Año	Años Subsecuentes
Tetraplejia Alta (C1-C4)	\$ 572,178	\$ 102,491
Tetraplejia Baja (C5-C8)	\$ 369,488	\$ 41,983
Paraplejia	\$ 209,074	\$ 21,274

La expectativa de vida para estos pacientes varía de acuerdo a su edad, aunque hay que considerar que el riesgo de muerte es mayor durante el primer año de vida después de la lesión, disminuyendo significativamente después de este periodo (Stover S. y cols., 1987).

Después de una lesión en médula espinal, se presenta un amplio espectro de alteraciones neurológicas, que van desde síntomas transitorios hasta efectos permanentes como paraplejia o tetraplejia, disfunciones autonómicas y pérdida sensorial (Ditunno J. y cols., 1994).

La parte del sistema nervioso que regula las funciones viscerales del cuerpo se denomina sistema nervioso autónomo (SNA), y contribuye a la regulación de la tensión arterial, motilidad y secreción digestivas, vaciamiento de la vejiga, sudoración y temperatura corporal entre otras (Guyton y Hall, 1998). Los centros que se localizan en la médula espinal, tallo encefálico e

---

hipotálamo activan al SNA. Las principales subdivisiones del sistema nervioso autónomo son: el sistema nervioso simpático (SNS) y el sistema nervioso parasimpático (SNP) (Figuras 1a y 1b).

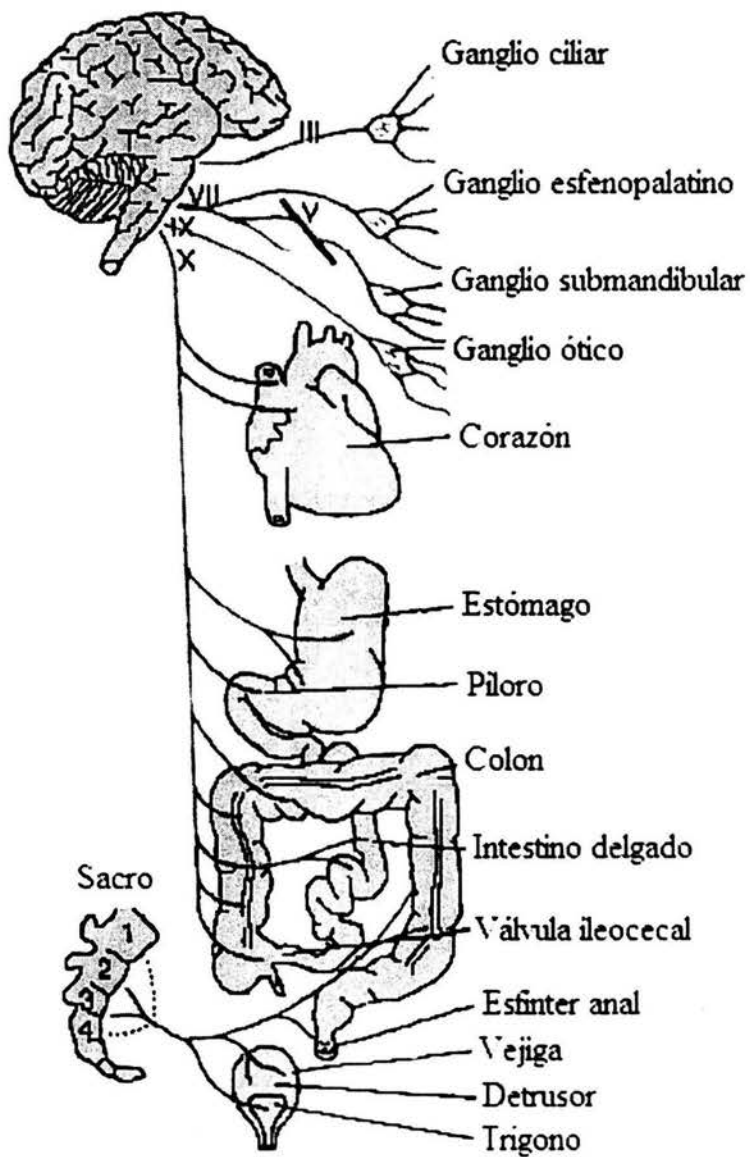


Figura 1a. Diagrama de la división parasimpática del sistema nervioso autónomo.

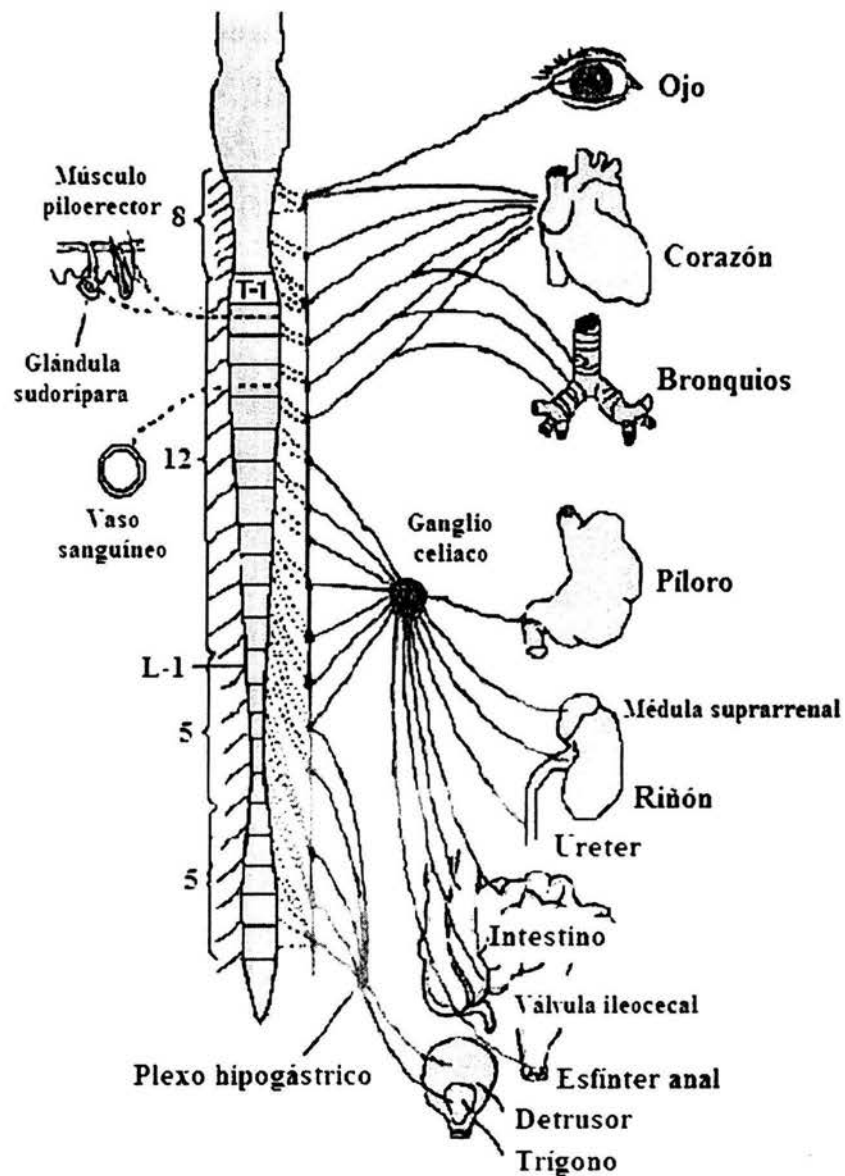


Figura 1b. Diagrama de la división simpática del sistema nervioso autónomo.

Los nervios simpáticos se originan entre los segmentos T1 y L2 de la médula espinal y desde allí pasan primero a la cadena simpática y después a los tejidos y órganos que son inervados por ellos. Las fibras parasimpáticas salen del sistema nervioso central a través de los pares craneales III, VII, IX, X y segundo y tercer nervios sacros. Cerca del 75% de todas las

---

---

fibras nerviosas parasimpáticas se encuentran en el nervio vago (X par craneal) y pasan a toda la región torácica y abdominal del cuerpo.

El nervio vago aporta ramas parasimpáticas al corazón, pulmones, esófago, estómago, todo el intestino delgado, mitad proximal del colon, hígado, vesícula biliar, páncreas y porciones superiores de los uréteres. Las fibras del tercer par craneal se dirigen hacia los esfínteres pupilares y músculos ciliares oculares; las fibras del séptimo par craneal llegan a las glándulas lagrimales, nasales y submaxilares; las del noveno par craneal pasan a la glándula parótida. Las fibras parasimpáticas sacras abandonan el plexo sacro a cada lado de la médula siguiendo los nervios sacros II y III y se distribuyen en el colon descendente, recto, vejiga y porción baja de los uréteres, así como los genitales externos para producir la erección durante la excitación sexual (Guyton y Hall, 1998).

Una lesión en cualquier nivel de la médula espinal afectará al sistema nervioso autónomo y por consiguiente las funciones que lleven a cabo los órganos que se encuentren inervados por cualquiera de sus subdivisiones.

Así, una lesión en médula espinal causa efectos locales y sistémicos. Los efectos locales incluyen necrosis hemorrágica de la médula, especialmente en la materia gris. Subsecuentemente puede extenderse una isquemia post-traumática e infarto a través de toda la sección de la médula (Tator Ch., Fehlings M., 1991). Así mismo, ocurren cambios químicos y celulares entre los que se incluyen la hidrólisis enzimática de lípidos lo que provoca una producción de eicosanoides, peroxidación lipídica, pérdida de calcio del espacio extracelular y aumento del mismo en el

---

---

espacio intracelular, acumulación de potasio en el espacio extracelular, aumento de sodio en tejidos y disminución de magnesio, etc. (Lemke M., Faden A., 1990; Amar P., Levy M., 1999; Claus-Walker J., Halstead L., 1982).

Los efectos sistémicos, especialmente a nivel de la región cervical, causan hipotensión debido no sólo a la interrupción de la fibras simpáticas, sino también debido a una disfunción directa del miocardio (Guha A. y cols., 1989). Puede haber inestabilidad hemodinámica y disritmia cardiaca que influyen en la disposición del fármaco, particularmente en lesiones agudas, cervicales y torácicas altas.

Una lesión en médula espinal que resulte en paraplejia o tetraplejia causa atrofia muscular así como atrofia en los vasos sanguíneos de las extremidades dando lugar a una disminución en el volumen vascular, lo que puede estar relacionado con la disminución del volumen sanguíneo total (Houtman S. y cols., 2000). Esto puede jugar un papel importante en la alteración de la regulación de la circulación en estos pacientes.

Así mismo ocurren cambios en los fluidos de los compartimentos del cuerpo provocando cambios en la distribución del fármaco (Cardús D., McTaggart W., 1984). Después de una LTME el cuerpo sufre cambios importantes tanto funcional como estructuralmente, uno de estos cambios es la redistribución del agua corporal total. Se ha observado que en pacientes parapléjicos y tetrapléjicos la cantidad de agua corporal total es menor comparado con individuos normales. La cantidad de agua extracelular en sujetos sanos es mayor en términos absolutos, pero menor cuando se relaciona con el peso corporal si se compara con individuos parapléjicos y

---

---

tetraplégicos. Después de una LTME probablemente hay una pérdida en el agua corporal total que acompaña a la pérdida de peso observado en los primeros 3 a 4 meses después de la lesión. Esta disminución en el agua corporal total puede deberse a las alteraciones en el metabolismo, específicamente en el equilibrio electrolítico del potasio. Ya que la mayoría del potasio es intracelular es posible que la pérdida de éste se deba a una disminución en el número de células o a una disminución en el potasio intracelular. La pérdida de células dará lugar a una menor cantidad de agua corporal total que puede acompañar la pérdida de masa corporal total.

Así mismo, puede haber una alteración en la función de membranas provocando que las células musculares permitan que una cantidad anormal de electrolitos se acumulen en el espacio extracelular.

Después de una lesión en médula espinal se presenta una elevación en los niveles extracelulares de amino ácidos como la taurina, treonina, alanina, glutamina, GABA y serina aunque esta elevación no parece tener efectos tóxicos. Sin embargo también hay elevación en los niveles de glutamato y aspartato, lo que puede provocar efectos tóxicos en el sistema nervioso central (Panter S. y cols., 1990). *In vitro* estos aminoácidos han mostrado ser capaces de exacerbar 2 procesos diferentes de lesión celular: parecen mediar cambios en los iones que causan edema celular; las excitotoxinas promueven incremento del calcio intracelular que puede provocar daños en las membranas, activar la proteólisis, y causar un enlace cruzado irreversible de proteínas dando lugar a la muerte celular.

---

---

Otros problemas que se presentan son las infecciones provocadas por escaras en los lugares sometidos a constante presión, ya que la pérdida de sensibilidad al dolor y las diferencias en el flujo sanguíneo en los miembros paralizados son factores que pueden dar lugar a estas infecciones secundarias sin que el paciente se de cuenta de ello. Así mismo, durante las fases aguda y crónica después de la lesión frecuentemente se presenta compromiso ventilatorio y falla respiratoria (Segal JL., Brunnemann S., 1989).

La desnutrición es otro problema detectado comúnmente en pacientes con lesión en médula espinal. Se observa un estado catabólico caracterizado por un balance negativo de nitrógeno que persiste por varias semanas después de la lesión aguda, y un estado general de desnutrición de etiología desconocida durante la fase crónica (Laven G. y cols., 1989). La composición corporal se altera al incrementarse la grasa corporal. Existe anemia e hipoalbuminemia de origen desconocido (Wall B. y cols., 1999; Huang C. y cols., 1990); la hipoalbuminemia puede contribuir a cambios en la distribución de fármacos.

Se ha observado que una posición erguida en pacientes tetraplégicos está asociada con una disminución en el retorno venoso y con un aumento en el gasto cardiaco, lo que contribuye a la caída en la presión sanguínea (Wall B. y cols., 1993). Esto es de gran importancia para fármacos que se administran por vía intramuscular, ya que al haber una hipotensión los músculos se encuentran poco irrigados, provocando que la biodisponibilidad del fármaco disminuya, lo que de hecho ocurre con la gentamicina donde se observa una disminución en la absorción del fármaco en músculos paralizados en comparación con músculos sanos aún estando en reposo (Segal JL. y cols., 1986a, 1988).



---

Durante los primeros años después de la lesión se presentan una serie de problemas asociados como infecciones del tracto urinario, espasticidad, fiebre y escalofríos, contracturas, neumonía, función renal anormal, infecciones de heridas ocasionadas por cirugía, problemas gastrointestinales, entre otros (Dittuno J., Formal Ch., 1994), por lo que los pacientes son sometidos a la administración de gran variedad de fármacos como los antibióticos aminoglucósidos, estimulantes del sistema nervioso central, analgésicos, antiinflamatorios, etc.

Por lo general estos fármacos son administrados a los pacientes sin tomar en cuenta los cambios fisiológicos presentes y que pueden estar relacionados con las alteraciones observadas en los procesos farmacocinéticos de absorción, distribución, metabolismo y excreción.

La absorción de un fármaco puede verse alterada por varios factores que han sido estudiados ampliamente, como la influencia del alimento, la edad y patologías diversas, sin embargo existe muy poca información relacionada con cambios en la biodisponibilidad cuando hay una lesión en médula espinal. Se ha reportado una disminución en la biodisponibilidad en pacientes con lesión en médula espinal comparados con individuos normales para fármacos como teofilina (Segal JL. y cols. 1986b), paracetamol (Segal JL., Brunnemann S., 1989) y gentamicina (Segal JL. y cols., 1986a, 1988).

Así mismo se han observado alteraciones farmacocinéticas en modelos animales sometidos a una LTME, particularmente disminución en la absorción, para fármacos administrados por vía oral como el paracetamol (García-López P. y cols., 1995a, 1996, 1997) y la ciclosporina A (Ibarra A. y cols., 1996).

---

---

Por otro lado se han reportado alteraciones gastrointestinales como el retardo en el vaciamiento gástrico en pacientes con lesión en médula espinal (Stone J. y cols., 1990; Segal JL. y cols., 1987; Rajendran S. y cols., 1992; Nino-Murcia M., Friedland G., 1992) lo que puede estar relacionado con la disminución en la absorción de un fármaco, o con la disminución en la velocidad de absorción (Halstead L. y cols, 1985). Debido a que la absorción de la mayoría de los fármacos administrados por vía oral ocurre más rápida y completamente en el intestino delgado que en el estómago, la velocidad del vaciamiento gástrico probablemente influye sobre la biodisponibilidad absoluta del fármaco.

### **3. MODELOS ANIMALES DE LESION TRAUMATICA EN MEDULA ESPINAL**

Los modelos animales han sido ampliamente utilizados en el estudio de la fisiopatología así como en el desarrollo de estrategias de tratamiento para lesiones del sistema nervioso central (Amar P., Levy M., 1999). El registro histopatológico de la médula espinal traumatizada obtenido de casos humanos no da una información muy exacta del grado del trauma inducido en el momento de la lesión, la naturaleza y el grado de varias reacciones patológicas que siguen al trauma, y de su contribución en la exacerbación del trauma original (Das G., 1989). Esta información es importante en el establecimiento de posibles medidas terapéuticas y el tiempo óptimo en que éstas deben ser administradas. Así mismo, es difícil llevar a cabo estudios en pacientes debido a la variabilidad interindividual en cuanto a la localización y extensión del daño en la médula espinal (García-López P. y cols., 1996). Con el fin de obtener un mayor entendimiento de las reacciones histopatológicas se han desarrollado varios modelos experimentales de trauma en la médula espinal. Estos modelos se han utilizado para inducir

---

---

paraplejía en condiciones de laboratorio con el objetivo de reproducir la condición humana de un trauma en médula espinal y desarrollar algunas medidas terapéuticas para tratar la paraplejía.

Los modelos más utilizados han sido el de sección de médula espinal, lesiones hechas con un bisturí en plano transversal que resultan en una sección bilateral completa de la médula espinal lo que da lugar a una paraplejía; el modelo de compresión que consiste en presionar por ambos lados a la médula espinal, y el modelo de contusión (Das G., 1989).

El modelo de contusión fue desarrollado por Allen en 1911 con el objetivo de inducir un trauma por contusión de forma cuantitativa sin lesionar directamente los axones de la materia blanca o de la materia gris (Allen A., 1911). Los efectos del trauma primario directo después de la contusión parecen diseminarse en forma de gradiente tanto en dirección dorso-ventral como próximo-distal. En este modelo las condiciones patológicas secundarias que siguen al trauma primario son la causa principal de la paraplejía, y pueden ser controladas adecuadamente por medios quirúrgicos. Se asume que la fuerza del impacto y la intensidad del trauma están correlacionados (Das G., 1989).

Este modelo de contusión ha sido modificado por diversos investigadores, y ha sido validado comparándolo con resultados de parámetros funcionales, electrofisiológicos y morfológicos entre ratas y humanos (Metz GA, 2000).

El uso de modelos animales ha permitido estudiar con mayor profundidad la fisiopatología presente después de una lesión en médula espinal y los cambios en la cinética de

---

algunos de los fármacos más utilizados en el tratamiento de este padecimiento. Por lo general los estudios de farmacocinética son llevados a cabo en ratas macho para evitar la influencia de los ciclos estrales, sin embargo las diferencias ligadas al sexo como el balance hormonal y la actividad de ciertas enzimas no parecen ser significativas. De hecho el uso de hembras en estudios de lesión en médula espinal presenta ventajas ya que durante los primeros días después de la lesión se presenta una distensión excesiva de la vejiga y pérdida de emisión voluntaria lo que hace necesario el manejo manual de ésta. En hembras la longitud de la uretra es menor por lo que su manipulación es más fácil que en machos y las complicaciones que se presentan en los genitales externos son menos frecuentes (García-López y cols., 1995a, 1995b). En un estudio reportado anteriormente, realizado en ratas hembras y machos sometidas a una LTME, se demostró que no existe diferencia estadísticamente significativa en los parámetros farmacocinéticos del acetaminofén entre los grupos (García-López y cols., 1996). De acuerdo a estos resultados y a las ventajas que representa el utilizar ratas hembras se decidió realizar los experimentos en hembras.

#### **4. FÁRMACOS CUYA FARMACOCINÉTICA SE ENCUENTRA ALTERADA DESPUÉS DE UNA LESIÓN EN MÉDULA ESPINAL**

Se han encontrado alteraciones en la farmacocinética de algunos fármacos después de una lesión en médula espinal como es el caso de gentamicina administrada por vía intramuscular (Segal JL. y cols., 1988) cuyos valores de concentración sanguínea fueron menores a los reportados en individuos normales, observándose una absorción retardada, así mismo se reportó un aumento en el volumen de distribución del 30-50% en pacientes con lesión crónica. En el caso

---

---

de otro antibiótico, la amikacina, el volumen de distribución también se encuentra elevado en un 20% en pacientes con lesión de médula espinal en comparación con individuos normales (Segal JL. y cols., 1989).

En estudios realizados en ratas sometidas a una lesión aguda, la biodisponibilidad del acetaminofén disminuyó en un 50% en comparación a lo reportado en los grupos controles (García-López P. y cols., 1995a, 1997). Así mismo, en un estudio realizado con aspirina por Fuentes-Lara y cols. (1999) se observó una disminución en el grado de absorción del fármaco, la cual no fue estadísticamente significativa.

Por otro lado, la biodisponibilidad oral de la ciclosporina disminuye en ratas sometidas a una LTME, contrario a lo que sucede cuando se administra por vía intraperitoneal observándose un aumento pronunciado de este parámetro debido posiblemente a una disminución en el flujo sanguíneo hepático que a su vez disminuye la depuración (Ibarra A. y cols., 1996).

El metabolismo y la eliminación podrían también estar alterados después de una LTME, ya que en estudios llevados a cabo en pacientes a los que se les administró lorazepam por vía intravenosa se observa una disminución en la velocidad de eliminación (Segal JL. y cols., 1991). En el caso de la fenacetina, un fármaco que se metaboliza en un alto porcentaje y se considera dependiente del flujo sanguíneo, su depuración disminuye en un modelo animal sometido a LTME (García-López P. y cols., 1999).

---

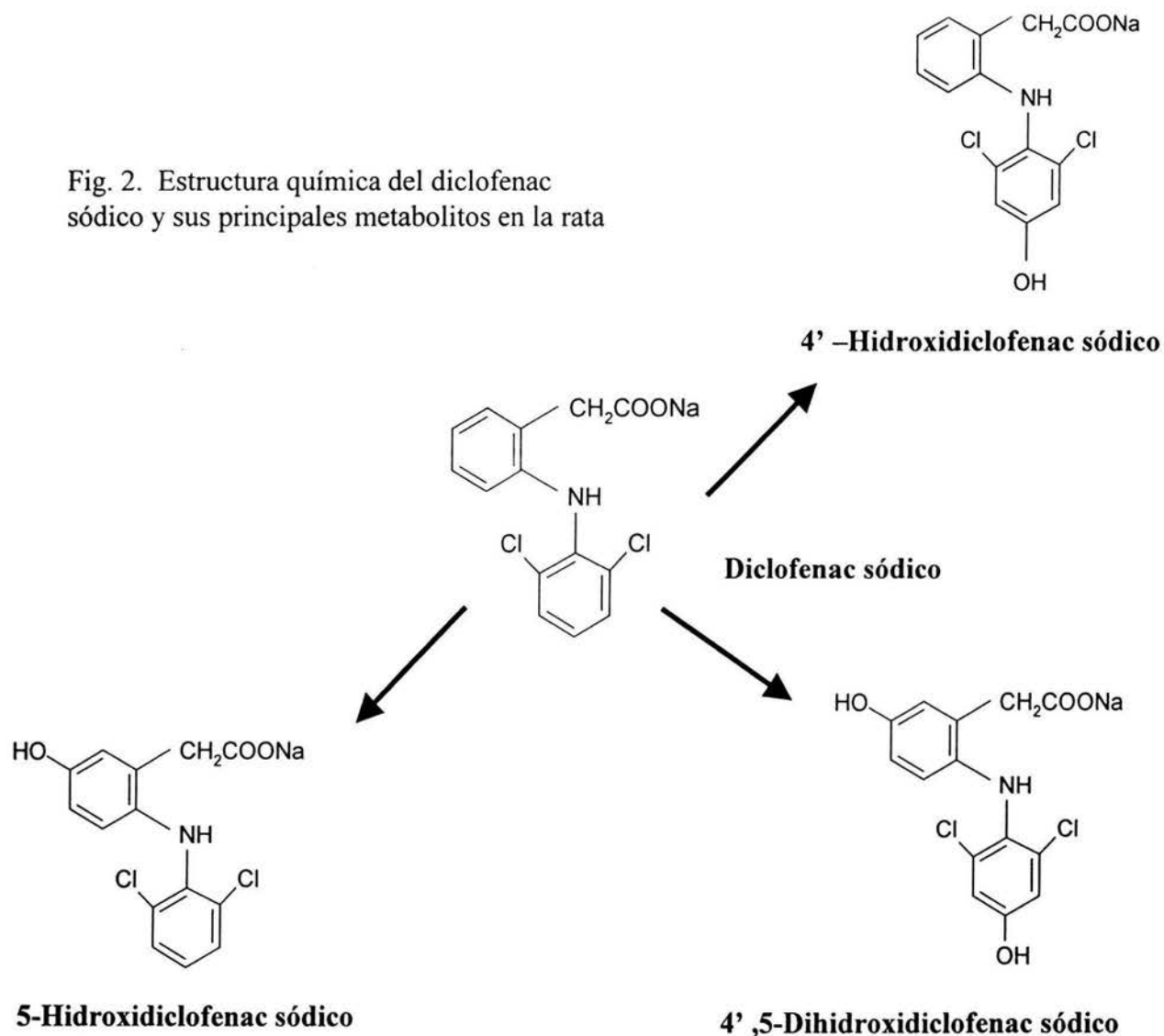
## 5. DICLOFENAC SÓDICO.

Como se ha indicado anteriormente, los pacientes que presentan una lesión de médula espinal son sometidos a una farmacoterapia extensa. Entre los fármacos más utilizados se encuentran antiinflamatorios no esteroideos que son administrados desde las primeras horas después de la lesión y por lo general durante toda la vida del paciente. Entre estos fármacos se encuentra el diclofenac sódico que es un agente antiinflamatorio no esteroideo que puede ser administrado por vía oral, intramuscular e intravenosa.

Se trata de un ácido débil con un pKa de 4, con un peso molecular de 318.14, sin olor, de apariencia blanca cristalina, ligeramente higroscópico (Adeyeye C., Li P., 1990). Estructuralmente es la sal de sodio del ácido O[(2,6-dicloro-fenil)amino] fenil acético (Fig.2). Existen tres metabolitos identificados en la rata: 4'-hidroxi-diclofenac, 5-hidroxi-diclofenac y el 4',5-hidroxi-diclofenac (John V., 1979).

La concentración máxima en plasma se alcanza aproximadamente a las 1 - 2 horas después de una administración oral en humanos. Las concentraciones plasmáticas son directamente proporcionales a la dosis en el rango de 1 - 10 mg/kg en ratas y en el rango de 25 - 150 mg en el humano (Davies NM., Anderson K., 1997). Debido a que aproximadamente la mitad de la dosis de diclofenac se metaboliza por el efecto de primer paso en el hígado (Tsuchiya T. y cols., 1980; Fukuyama T. y cols., 1994), el área bajo la curva tras la administración oral o rectal es aproximadamente la mitad de la obtenida tras una dosis parenteral equivalente. Su vida media en plasma es de 1 - 2 horas.

Fig. 2. Estructura química del diclofenac sódico y sus principales metabolitos en la rata



### 5.1 Farmacocinética

En animales son pocos los estudios donde se ha caracterizado la farmacocinética del diclofenac. En estudios realizados en perros con el conducto biliar canulado se ha reportado una  $C_{\text{max}}$  de 112  $\mu\text{g/ml}$  y una  $t_{1/2}$  de eliminación de 1.3 hrs después de la administración de 25 mg/kg por vía intravenosa (Tsuchiya T. y cols., 1980). Peris-Ribera y cols. (1991) realizaron estudios en

---

ratas y sólo reportaron el área bajo la curva ( $ABC_{0-\infty}$ ) de 234  $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$  después de una dosis oral de 1.25 mg/kg.

El diclofenac muestra un alto grado de unión a proteínas séricas que varía entre 99.5% y 99.7%, donde aproximadamente el 98% corresponde a la unión con la albúmina sérica, el 1.55% corresponde a lipoproteínas séricas (HDL, LDL, VLDL) y el 0.45 – 0.3% al fármaco libre (Chamouard JM. y cols., 1985; Chan K. y cols., 1987). Presenta un volumen de distribución de 0.12-0.17 l/kg.

El aclaramiento sistémico total del diclofenac en el plasma es de  $263 \pm 56$  ml/min. La vida media de la fase terminal en el plasma se eleva a 1-2 horas.

El diclofenac pasa al líquido sinovial donde se han medido las concentraciones máximas después de 2-4 horas de haberse alcanzado los niveles máximos en el plasma. La vida media aparente para la eliminación desde el líquido sinovial es de 3-6 horas. Dos horas después de alcanzarse los niveles plasmáticos máximos las concentraciones de sustancia activa en el líquido sinovial son más altas que en el plasma y siguen siendo superiores hasta por 12 horas (Fowler P. y cols., 1983). En pacientes con artritis se ha observado que existe mayor concentración de diclofenac libre en el líquido sinovial que en el plasma (Fowler P. y cols., 1986).

La biotransformación del diclofenac se efectúa en parte por glucuronidación de la molécula intacta, pero ante todo por hidroxilación simple y múltiple que produce varios metabolitos fenólicos: 3'-hidroxi-, 4'-hidroxi-, 5'-hidroxi-, 4',5-dihidroxi-, y 3'-hidroxi-4'-



---

---

metoxidiclofenaco. Estos son convertidos en gran parte en conjugados glucurónidos (Kumar S., 2002). Trabajos realizados con microsomas de hígado humano indican que en la vía oxidativa está participando el citocromo P-450 CYP2C (Leeman T. y cols., 1993).

Alrededor del 60% de la dosis administrada se excreta en la orina en forma de metabolitos procedentes de uno de estos procesos, menos del 1% se excreta como sustancia inalterada. El resto de la dosis se elimina en forma de metabolitos por la bilis en las heces, ya que el diclofenac está sujeto al ciclo enterohepático (Hardman J., Limbird L., 2003).

## **5.2 Farmacodinamia**

El diclofenac, en modelos animales de inflamación aguda y crónica, es más activo como antiinflamatorio que la fenilbutazona y es comparable en potencia a la indometacina teniendo además un índice terapéutico más grande que estos fármacos. Además de sus propiedades antiinflamatorias, en modelos preclínicos exhibe actividad antinociceptiva y antipirética. Se ha demostrado que los metabolitos del diclofenac tienen poco o nada de actividad antiinflamatoria y antinociceptiva (Adeyeye C., Li P., 1990). Además, se ha probado que la administración local de diclofenac produce ambos efectos de manera dependiente de la concentración.

## **5.3 Mecanismo de acción del diclofenac.**

Como otros agentes antiinflamatorios, el diclofenac inhibe la síntesis de prostaglandinas tanto in vitro como in vivo de una manera competitiva, explicando gran parte de su actividad farmacológica (Ku E. y cols., 1986; Cantor T., 1986). También se ha reportado que este fármaco disminuye la producción de leucotrienos y células sinoviales, de manera independiente de su

---

---

acción inhibitoria sobre la ciclo-oxigenasa. estimulando la reincorporación de ácido araquidónico hacia los triglicéridos.

#### **5.4 Estabilidad.**

La estabilidad del diclofenac sódico en fluidos biológicos ha sido evaluada previamente (El-Sayed Y. y cols., 1988), se ha determinado que el diclofenac puede ser congelado por al menos dos semanas sin degradarse (Adeyeye C., Li P., 1990).

---

---

## JUSTIFICACIÓN

Inmediatamente después de una lesión en médula espinal los pacientes son sometidos a politerapias que involucran diferentes tipos de fármacos, como antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios, entre otros, y que son administrados sin tener en cuenta los cambios fisiológicos presentes. La politerapia a la que son sometidos estos pacientes permanece durante el resto de sus vidas.

A pesar de estos antecedentes existen pocos estudios cuyos resultados permitan caracterizar completamente la fisiopatología existente después de la lesión, tanto en su fase aguda como crónica, y que ayuden a establecer los cambios que se presenten en la disposición de fármacos o en sus efectos terapéuticos.

En consecuencia, los medicamentos administrados durante estos periodos en dosis fijas pueden presentar perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos alterados lo que contribuye a una serie de problemas que tiene que enfrentar el médico para poder tomar una decisión apropiada en el momento oportuno.

Es por ello que es necesario llevar a cabo estudios que permitan caracterizar el comportamiento de los fármacos que se prescriben con más frecuencia en pacientes con una lesión medular aguda, ya que es en esta fase donde se determinan las posibilidades de sobrevivir y la calidad de vida que tendrá el paciente una vez estabilizado. Es necesario realizar este tipo de estudios primero en modelos animales que permitan una caracterización inicial del comportamiento cinético de los fármacos, para posteriormente utilizar los datos obtenidos como base para un estudio clínico.

---

---

---

---

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La lesión traumática aguda de médula espinal provoca cambios en la biodisponibilidad absoluta y la farmacocinética del diclofenac sódico administrado por diferentes vías.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los cambios en la biodisponibilidad absoluta del diclofenac sódico después de una lesión traumática aguda de médula espinal por contusión en ratas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Evaluar la biodisponibilidad absoluta del diclofenac sódico de dos administraciones extravasculares (oral e intramuscular) después de una lesión traumática aguda de la médula espinal en ratas.
2. Determinar los parámetros farmacocinéticos del diclofenac sódico bajo una administración intravenosa, oral e intramuscular después de una lesión traumática aguda de la médula espinal en ratas.

---

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

## 1. Estudio Experimental.

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley hembras de 12 a 16 semanas de edad y de 240 a 260 gr. de peso corporal.

El grupo experimental estuvo formado por 18 ratas que fueron sometidas a contusión de la médula espinal. Se subdividieron en 3 grupos, dependiendo de la vía de administración del fármaco, cada uno de los cuales recibió una dosis única de 10 mg/kg 24 horas después de la lesión. En el grupo A la administración fue por vía intravenosa, en el grupo B por vía oral y el grupo C por vía intramuscular. El grupo control estuvo formado por 18 ratas divididas en 3 grupos que fueron sometidas únicamente a laminectomías.

Tabla 2. Diseño experimental del trabajo.

Vía de Administración	Grupos Experimentales (contusión)	Grupos Control (laminectomía)
Intravenosa	Grupo A (n = 6)	Grupo 1 (n = 6)
Oral	Grupo B (n = 6)	Grupo 2 (n = 6)
Intramuscular	Grupo C (n = 6)	Grupo 3 (n = 6)

---

## **2. Métodos de anestesia.**

Para procedimientos de lesión medular y laminectomía se aplicó una dosis intramuscular en la extremidad posterior izquierda de una mezcla de clorhidrato de ketamina (75 mg/kg) y xilazina (12.5 mg/kg). Para la canulación de la arteria caudal las ratas se anestesiaron con éter etílico inhalado a demanda.

## **3. Métodos para laminectomía y contusión de la médula espinal.**

Previa asepsia y bajo los efectos de la anestesia, se realizó una incisión media sagital en la piel de la región torácica baja, seguida de la disección de los músculos paravertebrales de las apófisis espinosas, y se separó el periostio de las láminas vertebrales. Posteriormente se extirparon dos apófisis espinosas (T8 y T9) para poder visualizar las láminas correspondientes. Por último se llevó a cabo una laminectomía que permitió observar la porción dorsal de la médula espinal. Las meninges se mantuvieron intactas durante todo el proceso quirúrgico.

Los animales designados para los grupos experimentales se colocaron en un equipo de estereotáxia. La contusión de la médula espinal se llevó a cabo con la técnica de Allen modificada para ratas (García-López P. y cols., 1995a), donde se dejó caer un cilindro de acero inoxidable (con un peso de 15 gr, una punta roma de 1.7 mm de diámetro y 1 cm de largo) desde una altura de 10 cm a través de un tubo guía sobre la médula espinal. La intensidad de la lesión obtenida bajo estas condiciones es de 150 gr·cm.

El sitio de impacto en la médula se comprobó utilizando un microscopio quirúrgico por medio del cual se observó un hematoma central a nivel de la zona de contusión. Por último, la incisión quirúrgica fue suturada en la fascia muscular y en la piel mediante puntos simples.

---

#### **4. Criterios de inclusión.**

Se incluyeron todas las ratas en las que se comprobó la presencia del hematoma en la zona central de la médula espinal, después de haber sido sometidas a una contusión; así mismo debieron presentar parálisis flácida y completa por debajo del nivel de la lesión.

De los grupos control se incluyeron todas las ratas que presentaron una marcha normal al recuperarse de la anestesia después del procedimiento quirúrgico (laminectomía).

#### **5. Criterios de exclusión.**

Se excluyeron todas las ratas cuyo hematoma fuera lateralizado con respecto a la zona central de la médula espinal, así como aquellas que mostraron alguna actividad motora por debajo del nivel de la lesión una vez recuperadas de la anestesia.

#### **6. Administración del fármaco.**

Doce horas antes del estudio se suspendió el alimento para evitar que éste interfiriera con la absorción del fármaco.

El diclofenac sódico disuelto en solución salina se administró a una dosis de 10 mg/kg 24 hrs después de la lesión. Para la vía intravenosa el fármaco se administró mediante una cánula colocada en la vena yugular de la rata; para la vía oral se utilizó una cánula orogástrica, y para la vía intramuscular el fármaco se administró mediante una inyección en la extremidad posterior derecha.



---

---

El día del estudio se llevó a cabo la canulación en la arteria caudal bajo anestesia ligera con éter. Se colocó una cánula de polietileno número PE10, cuyo extremo libre se conectó con otra cánula del número PE50 que embona en la aguja de una jeringa de insulina. Por medio de éstas se obtuvieron las muestras sanguíneas (100  $\mu$ l) a los siguientes tiempos: 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 min., 1.5, 2, 4 y 6 horas después de la administración del fármaco. Después de cada toma el volumen sanguíneo se restituyó con el mismo volumen de heparina.

Las muestras sanguíneas obtenidas se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 ml previamente heparinizados y se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución con detección electroquímica.

## **7. Extracción.**

La determinación de diclofenac se llevó a cabo utilizando el método de Torres-López y cols. (1997). Se colocaron 100  $\mu$ l de sangre en un tubo eppendorf de 1.5 ml y se adicionó una cantidad conocida de estándar interno que en este caso fue naproxen sódico. La sangre se acidificó con 20  $\mu$ l de un buffer de fosfato monobásico de sodio 0.5M ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) con pH de 2.5. La extracción se llevó a cabo con 1 ml de acetato de etilo por agitación en un vórtex a la máxima velocidad durante 1 minuto. Las muestras se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 minutos y la capa orgánica fue transferida a un tubo cónico de vidrio. La capa orgánica se evaporó a sequedad en un baño de agua a  $50^{\circ}\text{C}$  bajo una corriente suave de nitrógeno. El extracto seco se reconstituyó con 50  $\mu$ l de fase móvil (acetato de sodio 0.075M y acetonitrilo 52:48 v/v). Se inyectaron 20  $\mu$ l al sistema cromatográfico.

---

## **8. Condiciones Cromatográficas.**

Se utilizó un sistema cromatográfico que consta de una bomba Waters 510 (Waters Assoc., Milford, MA, EUA), un inyector Rheodine 7125 (Cotati, CA, EUA) con asa de 20  $\mu$ l, un detector electroquímico BAS modelo LC-4B. Se utilizó una columna Waters Micro Pack C-18 de 30 cm de largo, 4 mm de diámetro interno y 10  $\mu$ m de tamaño de partícula. La fase móvil constó de una mezcla de acetato de sodio 0.075M y acetonitrilo en una proporción de 52:48 (v/v) ajustado a un pH de 3.3 con ácido acético glacial. El flujo se mantuvo en 1.7 ml/min. Se trabajó con un voltaje de operación de + 1.1 volts. Bajo estas condiciones el tiempo de retención para el diclofenac y el estándar interno (E.I.) fue de 7 y 4 minutos respectivamente.

## **9. Calibración.**

El método se calibró añadiendo cantidades conocidas de diclofenac y del E.I. a muestras de sangre libres de estos fármacos. Las muestras así preparadas fueron extraídas utilizando el método antes mencionado. Las curvas de calibración se establecieron en un rango de 0.5 a 60  $\mu$ g/ml de diclofenac. El E.I. se utilizó a una concentración de 10  $\mu$ g/ml. La concentración de diclofenac en las muestras de sangre total se calculó determinando la relación de alturas de picos de diclofenac y del E.I.

## **10. Validación.**

Se llevó a cabo la validación del sistema y del método evaluando la linealidad, precisión y exactitud.

---

## 11. Reactivos.

Las soluciones stock se prepararon disolviendo diclofenac sódico y naproxen sódico en metanol para obtener una concentración final de 1 mg/ml. Las soluciones estándar de diclofenac se prepararon por dilución del stock en un rango de 0.5 a 60  $\mu\text{g/ml}$  en agua desionizada. La solución del estándar interno se fijó a una concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$  en agua desionizada.

---

## **RESULTADOS**

---

## 1. Validación del sistema

Se llevó a cabo una revalidación del método descrito por Torres-López y cols. (1997) bajo las mismas condiciones cromatográficas, únicamente se ajustó el flujo a 1.7 ml/min así como la proporción de la fase móvil.

### 1.1 Linealidad del sistema

En la fig. 3A se muestran los cromatogramas obtenidos de la fase móvil sin diclofenac ni estándar interno (naproxén sódico), en la fig. 3B se muestran los cromatogramas de la fase móvil a la que se le ha añadido el diclofenac sódico y el naproxén sódico (10 µg/ml) con un tiempo de retención de 7 y 4 minutos respectivamente.

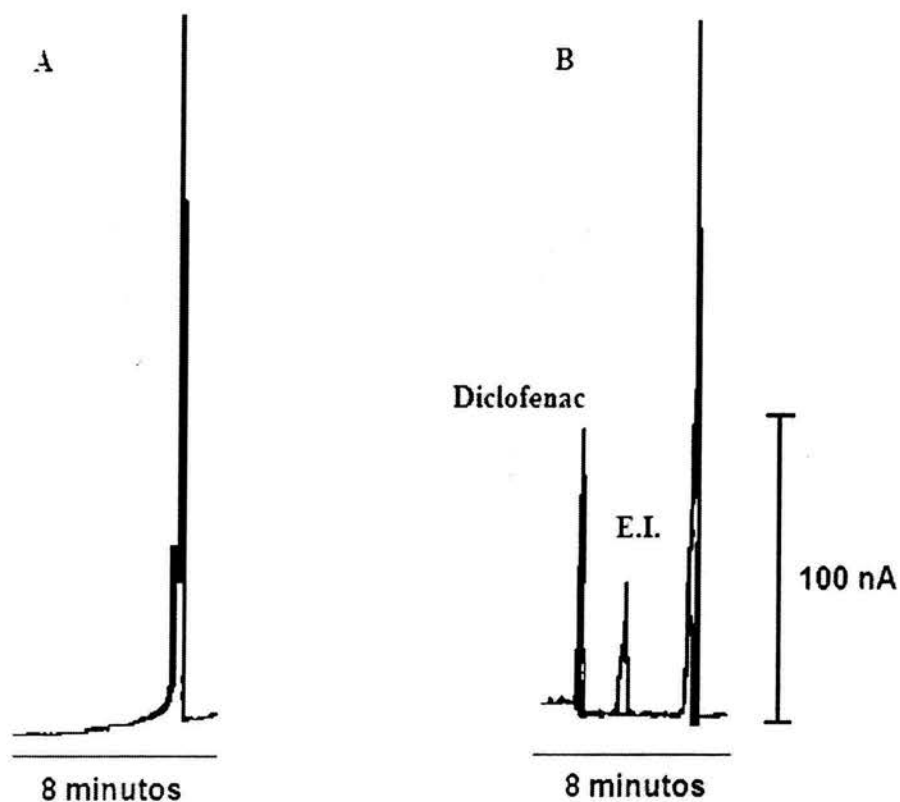
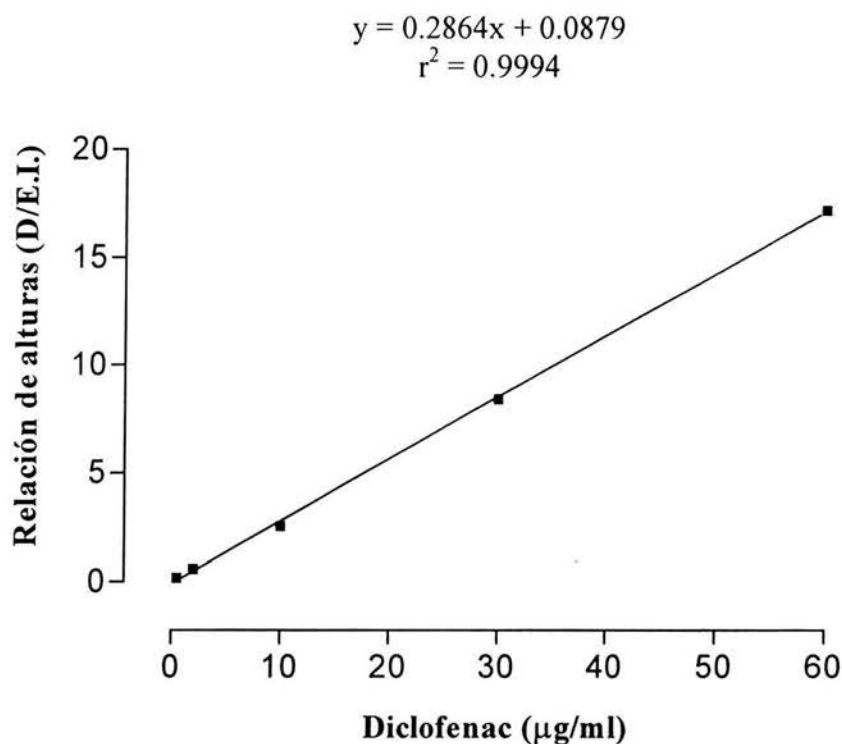


Figura 3. Cromatogramas típicos obtenidos al inyectar el diclofenac sódico y el estándar interno disueltos en fase móvil al sistema cromatográfico. (A) Fase móvil libre de fármaco, (B) mezcla del diclofenac y el estándar interno.

---

La figura 4 muestra la linealidad del sistema al graficar el cociente de la respuesta expresada en alturas del diclofenac sódico y del estándar interno (naproxén sódico) en función de la concentración de diclofenac en el rango de 0.5 a 60  $\mu\text{g/ml}$ . Los resultados promedio se muestran en la tabla 1.



**Figura 4.** Curva de calibración para el sistema graficando el cociente de la respuesta expresada en alturas del diclofenac (D) y del naproxén sódico (E.I.) en función de la concentración de diclofenac en el rango de 0.5 a 60  $\mu\text{g/ml}$ .

## 1.2 Precisión del sistema

La precisión medida por el coeficiente de variación intraensayo del sistema, se encontró dentro de los rangos de aceptación ( $\leq 2\%$  de C.V.) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Resultados promedio obtenidos del cociente de la relación de alturas del diclofenac y el estándar interno de seis curvas preparadas en el mismo día, calculando la desviación estándar y el coeficiente de variación (expresado en porcentaje).

<b>Concentración (µg/ml)</b>	<b>Relación de alturas (Diclofenac/E.I.)</b>	<b>DE</b>	<b>CV (%)</b>
0.5	0.1913	0.002	1.04
2	0.5993	0.006	1.04
10	2.5206	0.031	1.22
30	8.4077	0.100	1.19
60	17.1803	0.197	1.15

### 1.3 Exactitud del sistema

Los resultados obtenidos para la reproducibilidad del sistema (Tabla 4) determinada a través del coeficiente de variación interensayo, son igualmente aceptables, ya que se encuentran dentro del rango ( $\leq 2\%$  de C.V.), considerado como adecuado para estos ensayos.

**Tabla 4.** Resultados promedio obtenidos del cociente de la relación de alturas del diclofenac y el estándar interno de seis curvas preparadas en dos diferentes días, calculando la desviación estándar y el coeficiente de variación (expresado en porcentaje).

<b>Concentración (µg/ml)</b>	<b>Relación de alturas (Diclofenac/E.I.)</b>	<b>DE</b>	<b>CV (%)</b>
0.5	0.1904	0.002	1.03
2	0.596	0.007	1.20
10	2.5112	0.028	1.13
30	8.3994	0.100	1.19
60	16.9807	0.1837	1.08

---

---

## 2. Validación del método analítico

### 2.1 Linealidad del método

En la Figura 5, se muestra los cromatogramas típicos obtenidos al inyectar extractos sanguíneos al sistema cromatográfico. La fig. 5A corresponde a un extracto sanguíneo libre de fármaco, y la figura 5B corresponde a un extracto sanguíneo al que se le adicionó 10  $\mu\text{g/ml}$  de diclofenac sódico y 10  $\mu\text{g/ml}$  de estándar interno. Los tiempos de retención de estos compuestos fueron 7 y 4 minutos, respectivamente.

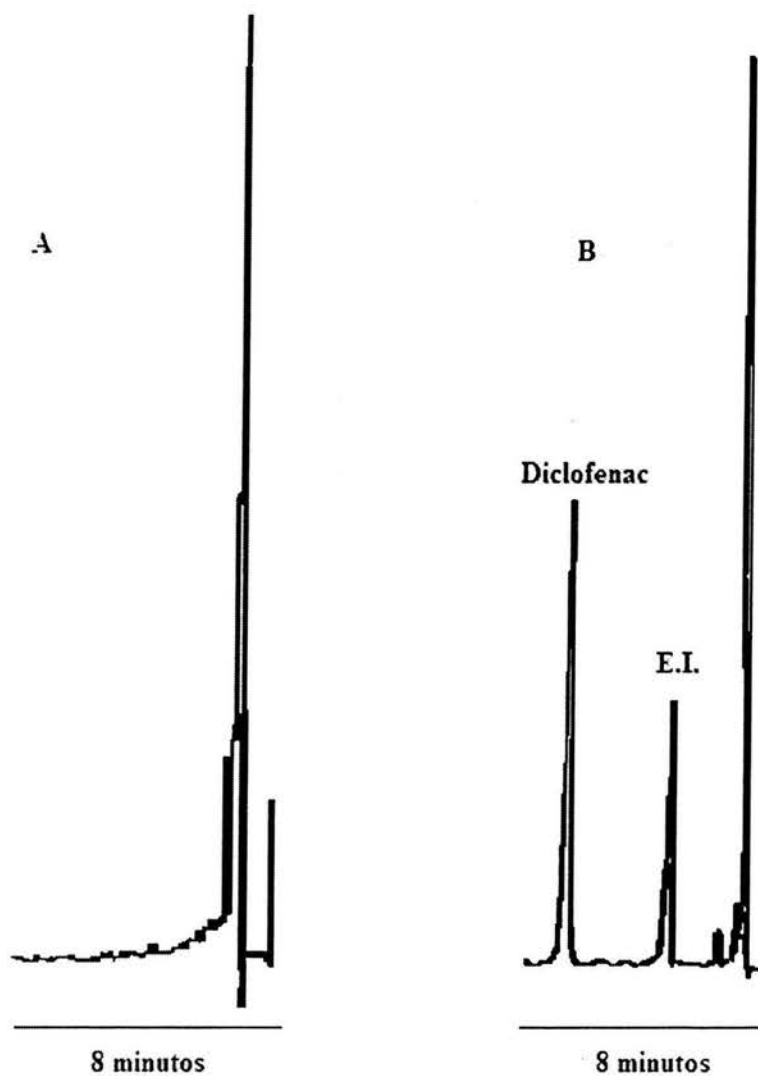


Figura 5. Cromatogramas típicos obtenidos al inyectar extractos sanguíneos al sistema cromatográfico. (A) muestra libre de fármaco, (B) mezcla del diclofenac y el estándar interno.

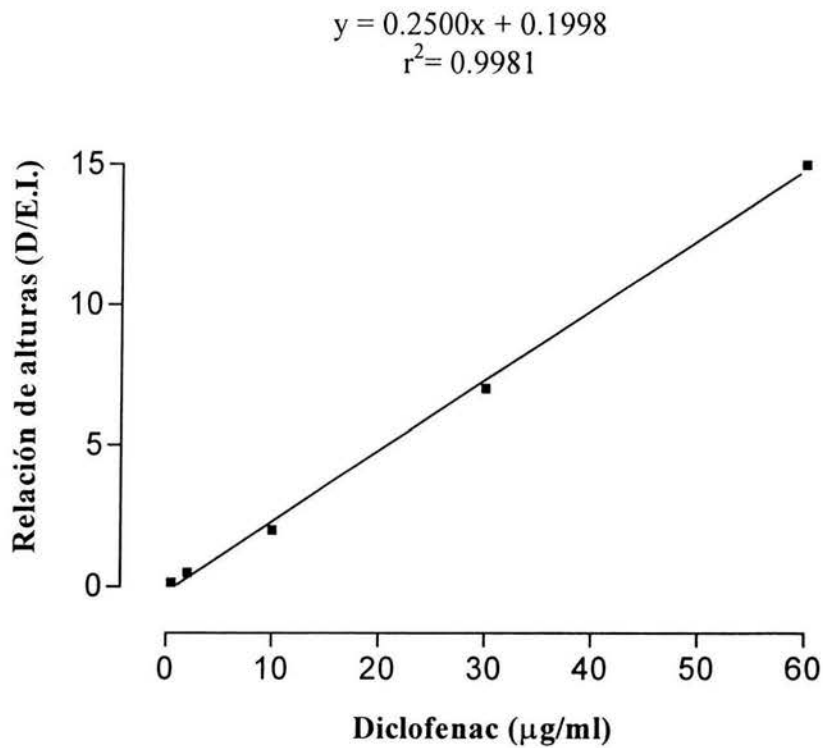
---

---



---

La figura 6 muestra la linealidad del método al graficar el cociente de la respuesta expresada en alturas del diclofenac sódico y del estándar interno (naproxén sódico) en función de la concentración sanguínea de diclofenac en el rango de 0.5 a 60 µg/ml. Los resultados promedio se muestran en la tabla 4.



**Figura 6.** Curva de calibración para el diclofenac obtenida graficando la concentración sanguínea del fármaco contra relación de alturas diclofenac/estándar interno dentro del rango de concentraciones esperadas.

## 2.2 Precisión del método

La precisión intradía e interdía del método analítico para cuantificar diclofenac en sangre total de rata (Tabla 5, 6) se encontró dentro del rango aceptado ( $\leq 15\%$  de C.V.) al evaluarla por el coeficiente de variación del método.

**Tabla 5.** Resultados promedio obtenidos para la precisión intradía del método, al evaluar tres curvas estándar de diclofenac en sangre total de rata preparadas el mismo día.

Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	DE	CV (%)
0.5	0.1321	0.1383	0.1444	0.1383	0.0062	4.4480
2	0.4592	0.5	0.4632	0.4741	0.0225	4.7435
10	1.9	1.8269	2.0667	1.9312	0.1229	6.3643
30	7.0208	7.0625	7.7471	7.2768	0.4078	5.6045
60	14.5306	15.2174	15.2826	15.0102	0.4166	2.7756

**Tabla 6.** Resultados obtenidos para la precisión interdía del método, al evaluar tres curvas estándar de diclofenac en sangre total de rata preparadas el mismo día, por dos días diferentes.

Conc. ( $\mu\text{g/ml}$ )	Día 1			Día 2			Promedio	DE	CV (%)
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3			
0.5	0.1321	0.1383	0.1444	0.1373	0.13	0.1275	0.1349	0.0062	4.6184
2	0.4592	0.5	0.4632	0.4245	0.4206	0.4412	0.4514	0.0295	6.5248
10	1.9	1.8269	2.0667	1.619	1.7674	1.6341	1.8023	0.1692	9.3885
30	7.0208	7.0625	7.7471	6.8	6.3922	5.9184	6.8235	0.6253	9.1636
60	14.5306	15.2174	15.2826	13.5	14.0417	14	14.4287	0.7152	4.9568

### 2.3 Exactitud del método

Al determinar la exactitud intradía e interdía del método analítico para cuantificar diclofenac en sangre total de rata (Tabla 7, 8) se encontró que el porcentaje promedio de recobro esta por arriba del 85%, considerándose un buen método de extracción. El CV para todos los casos fue menor al 15%.

**Tabla 7.** Resultados obtenidos para la exactitud intradía del método al evaluar tres curvas estándar de diclofenac en sangre total de rata preparadas el mismo día.

Conc. (µg/ml)	% Recobro C 1	% Recobro C 2	% Recobro C 3	Promedio	DE	CV (%)	Promedio Conc. Recup. (µg/ml)
0.5	94.6953	99.1398	103.5125	99.1159	4.4087	4.4480	0.4952
2	94.1756	102.5431	94.99	97.2382	4.6124	4.7435	1.9444
10	94.6027	90.9630	102.9028	96.1561	6.1196	6.3643	9.6156
30	100.1969	100.7921	110.5623	103.8504	5.8203	5.6045	31.1832
60	96.9107	101.4913	101.9261	100.1094	2.7786	2.7756	60.0652

**Tabla 8.** Resultados obtenidos para la exactitud interdía del método al evaluar tres curvas estándar de diclofenac en sangre total de rata preparadas el mismo día, por dos días diferentes.

Conc. (µg/ml)	Día 1			Día 2			Prom.	DE	CV (%)
	%Rec. C 1	% Rec. C 2	% Rec. C 3	% Rec. C 1	% Rec. C 2	% Rec. C 3			
0.5	94.6953	99.1398	103.5125	98.4229	93.1900	91.3978	96.7264	4.4672	4.6184
2	94.1756	102.5431	94.9959	87.0591	90.4840	90.4840	93.2903	5.3644	5.7503
10	94.6027	90.9630	102.9028	80.6195	88.0004	81.3633	89.7419	8.4235	9.3864
30	100.1969	100.7921	110.5623	97.0458	91.2259	84.4641	97.3812	8.9236	9.1636
60	96.9107	101.4913	101.9261	90.0372	93.6500	93.3719	96.2312	4.7700	4.9568

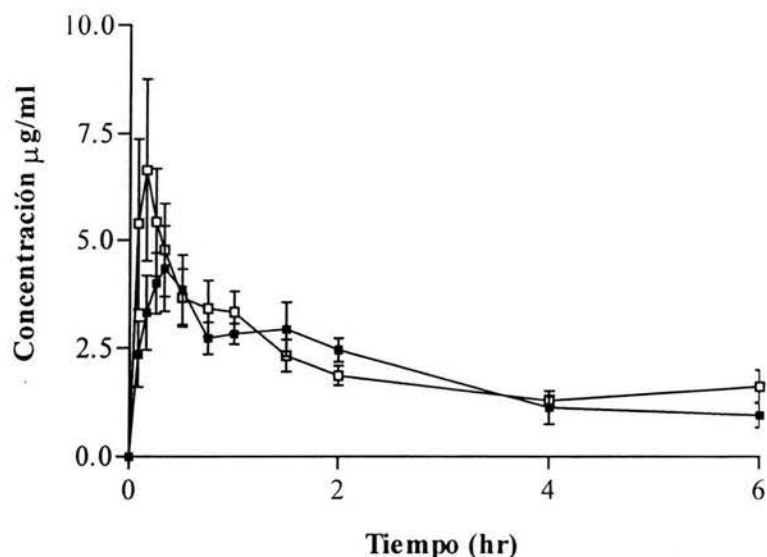
---

### 3. Análisis Farmacocinético.

Se realizaron curvas individuales de concentración sanguínea-tiempo a partir de las determinaciones de las concentraciones sanguíneas de diclofenac sódico. A partir de estas curvas se determinó el pico de la concentración máxima alcanzada ( $C_{max}$ ) y el tiempo requerido para alcanzarla ( $T_{max}$ ). Se determinó la vida media ( $t_{1/2}$ ) a partir del ajuste de una recta de los datos de la zona final de caída en la gráfica semilogarítmica del curso temporal. Se obtuvo el área bajo la curva al tiempo final ( $ABC_{0-\infty}$ ) mediante el método de los trapezoides, y la velocidad de absorción se calculó a partir de la relación entre  $C_{max}$  y el ABC ( $C_{max}/ABC$ ). Se determinó la biodisponibilidad absoluta del diclofenac sódico utilizando los datos del ABC de cada uno de los tipos de administración comparándolos con los datos de la administración intravenosa.

Las diferencias en los parámetros farmacocinéticos de cada grupo control y su correspondiente grupo experimental se analizarán utilizando la prueba t-Student para datos no pareados, considerándose como diferencia estadística cuando  $p < 0.05$ .

### 3.1 Administración Oral



**Figura 7.** Concentración de diclofenac después de la administración oral (10 mg/kg) a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 (□) y a ratas control (■). Los datos representan la media ± ee de 6 animales.

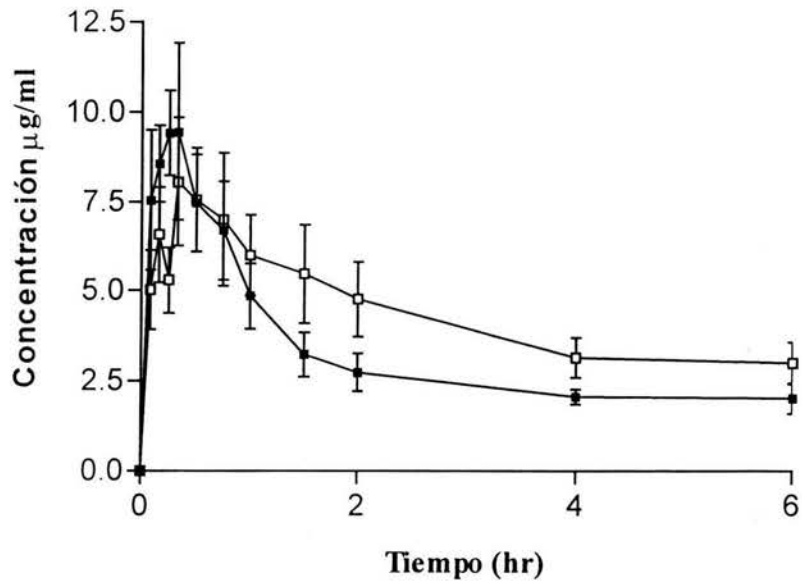
En la figura 7 se muestran los perfiles de la concentración sanguínea de diclofenac del grupo control y del lesionado observándose concentraciones similares en ambos grupos.

**Tabla 9.** Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de una administración oral a ratas sometidas a una lesión aguda a nivel de T8 y a ratas control. Los datos representan la media ± ee de 6 animales.

	ABC (µg*hr/ml)	C <sub>max</sub> (µg/ml)	T <sub>max</sub> (hr)	t <sub>1/2</sub> (hr)	C <sub>max</sub> /ABC (hr <sup>-1</sup> )
<b>Control</b>	16.79 ± 3.58	5.09 ± 0.89	0.74 ± 0.28	3.0 ± 0.55	0.36 ± 0.07
<b>Lesión</b>	26.36 ± 10.36	8.57 ± 1.81	0.21 ± 0.03	3.4 ± 1.47	0.51 ± 0.15

De acuerdo a los resultados indicados en la tabla 8, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos del grupo control y del grupo lesionado después de la administración oral de diclofenac, aunque se puede observar una tendencia al aumento en el ABC, C<sub>max</sub> y C<sub>max</sub>/ABC.

### 3.2 Administración Intramuscular



**Figura 8.** Concentración de diclofenac después de la administración intramuscular (10 mg/kg) a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 (□) y a ratas control (■). Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

En la figura 8 se muestran los perfiles de la concentración sanguínea de diclofenac del grupo control y del lesionado. Se observa un incremento de las concentraciones del diclofenac en el grupo sometido a lesión con respecto al grupo control principalmente en la fase de eliminación.

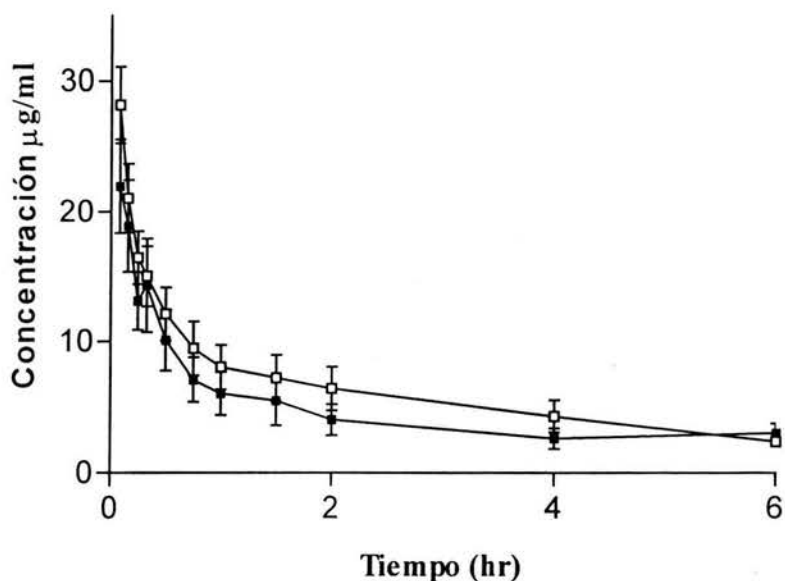
**Tabla 10.** Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de una administración intramuscular a ratas sometidas a una lesión aguda a nivel de T8 y a ratas control. Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

	ABC ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ )	Cmax ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Tmax (hr)	t $\frac{1}{2}$ (hr)	Cmax/ABC ( $\text{hr}^{-1}$ )
<b>Control</b>	22.71 $\pm$ 3.76	9.92 $\pm$ 1.13	0.41 $\pm$ 0.10	2.21 $\pm$ 0.16	0.46 $\pm$ 0.06
<b>Lesión</b>	41.22 $\pm$ 6.32*	7.16 $\pm$ 0.79	0.45 $\pm$ 0.10	5.19 $\pm$ 0.69*	0.19 $\pm$ 0.03*

\* Diferencia estadísticamente significativa determinado por la prueba t-Student ( $p < 0.05$ ).

De acuerdo a los resultados obtenidos para los parámetros farmacocinéticos después de una administración intramuscular, existe diferencia estadísticamente significativa en el ABC, t $\frac{1}{2}$  y Cmax/ABC del grupo lesionado con respecto al grupo control.

### 3.3 Administración Intravenosa



**Figura 9.** Concentración de diclofenac después de la administración intravenosa (10 mg/kg) a ratas sometidas a una lesión aguda a T8 (□) y a ratas control (■). Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

En la figura 9 se muestran los perfiles de la concentración sanguínea de diclofenac del grupo control y del lesionado, observándose concentraciones similares en ambos grupos.

**Tabla 11.** Parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de una administración intravenosa a ratas sometidas a una lesión aguda a nivel de T8 y a ratas control. Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

	ABC ( $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ )	Cp0 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$t_{1/2}$ (hr)	Cl (ml/h)	Vd (ml)
<b>Control</b>	$35.40 \pm 9.3$	$27.62 \pm 4.79$	$1.80 \pm 0.25$	$400.82 \pm 94.48$	$865.12 \pm 178.12$
<b>Lesión</b>	$48.93 \pm 9.86$	$39.29 \pm 3.83$	$2.05 \pm 0.20$	$244.66 \pm 41.26$	$703.95 \pm 135.46$

No se observan diferencias estadísticamente significativas en los parámetros farmacocinéticos obtenidos para los grupos control y lesionado después de una administración intravenosa. Sin embargo, se puede apreciar una tendencia al aumento en los parámetros de ABC, Cp0, y  $t_{1/2}$ , y una tendencia a la disminución en la Cl y Vd.

### 3.4 Biodisponibilidad Absoluta

De acuerdo a los resultados de la tabla 11 se observan diferencias estadísticamente significativas en los grupos control de las vías oral e intramuscular y en el grupo de lesionados de la vía oral con respecto a la vía intravenosa (vía de referencia). No hay diferencias entre grupos control y lesionados de ambas vías.

**Tabla 12.** Biodisponibilidad absoluta (F) para cada vía de administración. Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

Vía de administración	F	
	Control	Lesión
Oral	0.47 $\pm$ 0.1*	0.52 $\pm$ 0.17*
Intramuscular	0.64 $\pm$ 0.11*	0.84 $\pm$ 0.13

\* Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la vía i.v. (prueba t de Student  $p < 0.05$ ).

### 3.5 Comparación entre vías de administración

Con el fin de establecer la posible influencia de la vía de administración en los resultados obtenidos para la biodisponibilidad, se compararon las tres vías utilizadas, encontrándose diferencias significativas para la Cmax de grupos control y de grupos de ratas lesionadas.

**Tabla 13.** Comparación entre vías de administración. Los datos representan la media  $\pm$  ee de 6 animales.

Vía de administración	Control	Lesión
	Cp0 / Cmax	Cp0 / Cmax
Intravenosa	27.62 $\pm$ 4.7*	39.29 $\pm$ 3.83
Oral	5.09 $\pm$ 0.89*	8.57 $\pm$ 1.81 **
Intramuscular	9.92 $\pm$ 1.13*	7.16 $\pm$ 0.79 **

\* Diferencia estadísticamente significativa entre vías de administración (prueba t de Student  $p < 0.05$ ).

\*\* Diferencia estadísticamente significativa con respecto a la vía intravenosa (prueba t de Student  $p < 0.05$ ).



---

---

## **DISCUSIÓN**

---

---

Después de una lesión traumática en médula espinal (LTME) los pacientes son sometidos a una serie de tratamientos farmacológicos con el fin de estabilizarlos y tratar de reducir los procesos secundarios que se siguen después de la lesión primaria. Algunos de los fármacos utilizados han sido caracterizados en cuanto a los cambios farmacocinéticos que presentan como es el caso de la gentamicina (Segal JL. y cols., 1986, 1988), lorazepam (Segal JL. y cols., 1991) y teofilina (Segal JL. y cols., 1986b); otros también han sido caracterizados utilizando modelos animales como la aspirina (Fuentes-Lara G. y cols., 1999), la ciclosporina A (Ibarra A. y cols., 1996) y el acetaminofén (García-López P. y cols., 1997). En estos fármacos se han encontrado alteraciones a nivel de la absorción, distribución, metabolismo y excreción ocasionados por la serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que se presentan después de una LTME.

En el presente trabajo se evaluó la biodisponibilidad absoluta del diclofenac sódico en un modelo animal previamente estandarizado (García-López P. y cols., 1995a). El diclofenac es un analgésico antiinflamatorio no esteroideo (AINE) utilizado en esta subpoblación por sus propiedades farmacológicas. Debido a la posibilidad de poder ser administrado por las 3 vías principales (oral, intramuscular, intravenosa) lo convierten en un modelo ideal para evaluar los cambios en la biodisponibilidad absoluta después de una LTME.

En este trabajo se utilizó un modelo animal experimental de LTME debido a que el cuadro histopatológico de la médula espinal traumatizada obtenido de casos humanos, aunque de gran valor, no da una información exacta del grado del trauma inducido durante la lesión, la naturaleza y el grado de varias reacciones patológicas que rodean al trauma y su contribución a la exacerbación del trauma original (Das G., 1989). Esta información es importante para establecer

---

---

medidas terapéuticas posibles y el momento óptimo en que deben ser administradas. Con el fin de entender estas reacciones histopatológicas es que se han desarrollado algunos modelos animales de lesión en médula espinal: por contusión, laceración, sección completa e incompleta.

El modelo de lesión de médula espinal por contusión tiene relevancia clínica ya que se ha reportado que simula muchos de los eventos histopatológicos de la lesión observada en humanos (Falconer J. y cols., 1996; Stokes B., Jakeman LB., 2002), al existir una relación entre la aceleración-fractura-dislocación de la espina producida por la contusión (Stover S., Fine P., 1987; García-López P. y cols., 1997). Este modelo está caracterizado por cambios patológicos secundarios que incluyen hemorragia, edema e isquemia debido al daño al sistema vascular; la fuerza del impacto en la médula espinal puede determinarse, y la intensidad o el grado del trauma puede ser cuantificado. Así mismo, la lesión por contusión no daña los axones de la materia blanca o gris de forma directa (Das G, 1989), las membranas de las meninges no se lesionan, manteniéndose íntegras, lo que ayuda a prevenir la penetración de tejido conectivo y fluido intersticial que por sí mismos pueden constituir una fuente importante de reacciones patológicas en la médula espinal. El modelo asume que las condiciones patológicas secundarias son la causa principal de la paraplejía producida en los animales y que pueden ser controladas por medios quirúrgicos apropiados.

A continuación se discutirán los resultados encontrados para los parámetros farmacocinéticos del diclofenac después de una LTME en cada vía de administración, así como los resultados obtenidos en términos de la biodisponibilidad absoluta para este fármaco.

---

---

Después de la administración por vía oral no se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros medidos, aunque si se identificaron algunas tendencias. En el grupo sometido a una LTME el ABC y la Cmax presentaron un ligero aumento (tabla 9), lo que puede deberse a una posible alteración a nivel del metabolismo. En condiciones normales el diclofenac es sujeto al metabolismo de primer paso por lo que a nivel sistémico únicamente se detecta el 50% del fármaco debido a este fenómeno (Hardman J., Limbird L., 2003). Así, si la LTME altera la capacidad metabolizadora del hígado entonces la Cmax puede elevarse, considerando que la cantidad de fármaco circulante será mayor. De hecho, en un estudio no publicado de Cruz y cols. se muestra una disminución en el metabolismo de la fenacetina, fármaco con un alto índice de extracción hepática (característica farmacocinética que indica la dependencia de la depuración al flujo sanguíneo hepático). El metabolismo de la fenacetina fue estudiado al medir la cinética de su principal metabolito, el paracetamol. Tomando en cuenta estos resultados podría esperarse el mismo comportamiento para el diclofenac considerando que presenta un índice de extracción hepática de 0.63 (Tabata K. y cols., 1995), siendo su metabolismo flujo dependiente.

Considerando una posible alteración en el flujo sanguíneo y en la motilidad gastrointestinal que se presentan después de una LTME (Seifert G. y cols., 1979; Nino-Murcia M., Friedland G., 1992), se esperaba un cambio en la velocidad de absorción medido por el parámetro farmacocinético de Tmax. Sin embargo en este estudio no se observaron diferencias entre el grupo control y el de lesionados. Esto puede deberse al nivel de la lesión y a la etapa en la que se evaluó a los animales, ya que se ha reportado que la magnitud de las alteraciones gastrointestinales relacionadas con la absorción del fármaco dependen de estos factores (Cruz L. y cols., 2002; García-López P. y cols., 1997).

---

---

---

Este estudio se llevó a cabo en una etapa aguda de lesión, es decir, la absorción se evaluó a las 24 hrs. después de la LTME. Así, es probable que la alteración del flujo sanguíneo señalada anteriormente se lleve a cabo en forma gradual conforme transcurre el tiempo después de producida la lesión, y su influencia en la absorción sea más notoria en las fases subagudas y crónicas (25 – 30 días después de la lesión) (Guizar-Sahagún G. y cols., 1998). La alteración en el flujo sanguíneo después de una LTME se ha demostrado en varios estudios realizados en modelos animales. Seifert y cols. (1979) demostraron en ratas Sprague-Dawley seccionadas a nivel T8-T9, que en la fase aguda después de la lesión hay una disminución en el flujo sanguíneo de órganos como el riñón, hígado, pulmón y músculos debido al shock medular, con síntomas clínicos similares a los observados en un shock hemorrágico, aunque en el caso de una LTME la causa parece ser debida a una disminución en el volumen sanguíneo circulante y a una reducción en la presión sanguínea de cerca del 70% de su valor inicial. Bravo y cols. (2001) observaron en ratas lesionadas a nivel T5-T6 por el método de contusión, una caída importante en la presión arterial promedio y en la frecuencia cardíaca durante los primeros 20 minutos. Así mismo, en un estudio realizado por García-López y cols. (artículo en preparación) en el cual se evalúa el flujo sanguíneo hepático microvascular en ratas sometidas a lesión en médula espinal (nivel T8), se encontró una disminución significativa en la velocidad del flujo relacionada con una reducción en la velocidad de las células sanguíneas más que con la concentración.

Referente a la motilidad gastrointestinal, Gondim y cols. (1999) señalaron un retardo en el vaciamiento gástrico durante la fase crónica después de una LTME e incluso desde las primeras horas después de la sección de médula espinal en ratas. García-López y cols. (1999) reportaron en un estudio con acetaminofén, cuya absorción depende del vaciamiento gástrico, que la T<sub>max</sub> de

---

---

animales lesionados (nivel T8, fase aguda) no cambia en comparación con el grupo control, indicando que la velocidad de vaciamiento gástrico probablemente no juegue un papel principal en la absorción del acetaminofén en lesiones torácicas bajas en la fase aguda; este comportamiento podría suponerse para el diclofenac, aunque tendría que verificarse en un modelo de lesión torácica alta o incluso cervical.

Así mismo, la alteración en la velocidad de vaciamiento gástrico parece estar relacionada con la liberación de óxido nítrico (Guizar-Sahagún G. y cols., 1996), un neurotransmisor no adrenérgico, no colinérgico del músculo liso del tracto gastrointestinal donde interactúa como un relajante con polipéptidos intestinales vasoactivos. Se ha encontrado una concentración elevada de NADPH (cofactor de la sintasa del óxido nítrico) en el plexo mientérico, en las fibras nerviosas de la capa muscular circular y en el esfínter pilórico de ratas sometidas a una lesión de médula espinal en comparación con las muestras de ratas sin lesión, lo que sugiere un aumento en la producción de óxido nítrico que puede estar ocasionando una disminución en la motilidad gastrointestinal.

Por otro lado, en la figura 7 se observa un aumento en la concentración sanguínea del diclofenac tanto del grupo control como del grupo con lesión después de aproximadamente 1 hr. de la administración del fármaco. Este incremento puede ser debido a la reabsorción a que es sometido el diclofenac mediante la recirculación enterohepática, explicándose como el tiempo necesario para su movimiento a través del tracto intestinal como glucurónido y para su deglucuronidación.

---

---

Después de la administración intramuscular se observaron cambios estadísticamente significativos para varios parámetros como el ABC,  $t_{1/2}$  y  $C_{max}/ABC$  (tabla 10). Esto también podría estar relacionado con la posible alteración en el flujo sanguíneo que puede provocar una disminución en la depuración y eliminación del diclofenac, debido a la variación en el funcionamiento de órganos como el hígado y el riñón dando lugar al aumento de casi al doble en la  $t_{1/2}$  y el ABC en el grupo de ratas lesionadas. Estos datos concuerdan con lo reportado para lorazepam en humanos (Segal JL. y cols., 1991) y para fenacetina en ratas lesionadas a nivel de T8 (García-López P. y cols., 1999; Cruz L. y cols., 2002) donde se señala precisamente una disminución en la depuración después de una LTME.

El aumento en la  $C_{max}/ABC$  no se esperaba ya que existen reportes que demuestran una disminución en el flujo de los músculos paralizados (Seifert J. y cols., 1979; Segal JL. y cols., 1986a), arterias femorales más pequeñas y una disminución en la capacidad venosa en individuos lesionados comparados con individuos normales (Houtman S. y cols., 2000), lo que indicaría un retardo en la absorción del fármaco. El aumento encontrado de este parámetro puede estar relacionado con el incremento en el ABC del grupo lesionado que incide directamente en la relación  $C_{max}/ABC$  y no tanto con un aumento en la absorción, lo que se confirma al no haber diferencias significativas entre la  $C_{max}$  de los grupos.

Es necesario considerar la etapa aguda en que se evaluó la absorción intramuscular, ya que en el estudio llevado a cabo por González-Esparza y cols. (2002) con diclofenac administrado vía intramuscular a ratas lesionadas a nivel T8 y evaluadas en fase crónica, se demuestra una disminución en el ABC y  $C_{max}$  de aproximadamente 30-40% en ratas lesionadas

---

---

con respecto al grupo control. Segal y cols. (1986) evaluaron la absorción de la gentamicina administrada intramuscularmente a pacientes tetraplégicos y parapléjicos en fase crónica, encontrando una disminución en la Cmax así como una disminución en la velocidad de absorción cuando se administró el fármaco por debajo del nivel de la lesión. Asimismo, Ishikawa y cols. (1983) observaron un retardo en la absorción del cefotiam, un antibiótico cefalosporínico, después de una administración intramuscular en pacientes con lesión en médula espinal.

Es necesario tomar en cuenta que los resultados reportados por Segal y cols. en humanos (1986) pueden ser diferentes de los obtenidos en estudios que utilizan modelos animales, ya que la composición del músculo es diferente en ambos (Gregory C. y cols., 2003; Dupont-Versteegden E. y cols., 1998). En modelos animales (ratas) hay mayor proporción de fibras tipo II (95%), también llamadas de contracción rápida; en los humanos en cambio hay fibras tipo II (50%) y fibras tipo I o de contracción lenta (Astrand P., Rodahl K., 1992).

En los resultados obtenidos para la administración por vía intravenosa no se observan diferencias estadísticamente significativas (tabla 11), aunque si una tendencia al aumento en los parámetros de ABC, Cmax y t1/2 en el grupo de ratas lesionadas lo que puede estar relacionado con la disminución en la Cl del diclofenac que se observa como una tendencia en este estudio, y que podría ser debida a las alteraciones fisiológicas mencionadas anteriormente presentes después de la lesión en médula espinal.

En cuanto a la biodisponibilidad absoluta no se observaron diferencias significativas entre los grupos control y lesionados de cada vía de administración (tabla 12), lo que sugiere que en la



---

---

fase aguda después de una LTME este parámetro no se ve alterado, aunque hay datos que indican la alteración en el proceso de absorción.

Por otro lado, se observan diferencias estadísticamente significativas en los grupos control de las vías oral e intramuscular y en el grupo de lesionados de la vía oral, todos con respecto a la vía intravenosa. Para evaluar la posible influencia de la vía de administración en estos resultados se compararon los parámetros ABC, C<sub>max</sub> y t<sub>1/2</sub> de las tres vías, encontrándose significancia estadística únicamente para la C<sub>max</sub> entre los grupos control de todas las vías y entre los grupos de lesionados de las vías oral e intramuscular con respecto a la vía intravenosa (Tabla 13). Estos resultados pueden deberse a la diferencia en el proceso de absorción propio de cada vía. Así, la variación de la C<sub>max</sub> después de una administración oral puede ser debida al metabolismo de primer paso al que se somete el fármaco, lo que provoca que únicamente el 50% de la dosis administrada llegue a la circulación sistémica.

Es necesario tomar en cuenta que la evaluación se llevó a cabo en la etapa aguda después de una LTME cuando las alteraciones fisiológicas y metabólicas aún no se han definido, y a nivel torácico bajo donde las variaciones parecen ser menos drásticas que a niveles altos de lesión.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio puede señalarse que en la etapa aguda después de una lesión en médula espinal pueden presentarse cambios en algunos parámetros farmacocinéticos. Estos cambios van a depender del fármaco en estudio, de sus propiedades fisicoquímicas y de la vía de administración utilizada.

---

---

## **CONCLUSIONES**

- 
- 
1. La biodisponibilidad absoluta oral e intramuscular del diclofenac sódico no se modifica después de una lesión traumática aguda de médula espinal en ratas.
  2. La farmacocinética del diclofenac sódico oral no cambia después de una lesión traumática aguda de médula espinal en ratas.
  3. La farmacocinética del diclofenac sódico intramuscular se altera después de una lesión traumática aguda de médula espinal en ratas. El aumento en ABC y  $t_{1/2}$  sugiere un posible retardo en la eliminación del fármaco en el grupo lesionado.
  4. La farmacocinética del diclofenac sódico intravenoso no se altera después de una lesión traumática aguda de médula espinal en ratas.
  5. El tiempo transcurrido desde la lesión así como el nivel de la misma parecen influir en el grado de las alteraciones bioquímicas y metabólicas presentes, y por lo tanto en la farmacocinética del fármaco administrado.
  6. Los cambios en la biodisponibilidad y farmacocinética observadas después de una lesión traumática aguda de médula espinal podrían depender del fármaco administrado, sus propiedades fisicoquímicas y de la vía de administración utilizada.

---

---

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 
1. Adeyeye C., Li P. Diclofenac Sodium. En: Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances V.19. E.U.A: Academic Press, Inc.; 1990. p.123.
  2. Allen A. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. J Am Med Assoc 1911; 57: 878-880.
  3. Amar P., Levy M. Pathogenesis and Pharmacological Strategies for Mitigating Secondary Damage in Acute Spinal cord Injury. Neurosurgery 1999; 44(5): 1027-1039.
  4. Astrand P., Rodahl K. Fisiología del trabajo físico. Bases fisiológicas del ejercicio. Ed. Médica Panamericana, 1992, 3a. edición, Argentina.
  5. Bravo G., Rojas-Martínez R., Larios F., y cols. Mechanisms involved in the cardiovascular alterations immediately after spinal cord injury. Life Sci 2001; 68 :1527-1534.
  6. Cardús D., McTaggart W. Total Body Water and Its Distribution In Men with Spinal Cord Injury. Arch Phys Med Rehabil 1984; 65: 509-512.
  7. Claus-Walker J., Halstead L. Metabolic and Endocrine Changes in Spinal Cord Injury: IV. Compounded Neurologic Dysfunctions. Arch Phys Med Rehabil 1982; 63: 632-638.
  8. Cruz L., Castañeda-Hernández G., Flores-Murrieta F., García-López P., Guízar-Sahagún G. Alteration of Phenacetin Pharmacokinetics after Experimental Spinal Cord Injury. Proc. West. Pharmacol. Soc. 2002; 45:4-5.
  9. Chamouard JM., Barre J., Urien S., Houin G., Tillement JP Diclofenac Binding to Albumin and Lipoproteins in Human Serum. Biochem Pharmac 1985; 34: 1695-1700.
  10. Chan K., Vyas K., Brandt K. In Vitro Protein Binding of Diclofenac Sodium in Plasma and Synovial Fluid. J Pharm Sci 1987; 76: 105-108.
  11. Das G. Perspectives in Anatomy and Pathology of Paraplegia in Experimental Animals. Brain Res Bull 1989; 22(1): 7-32.

- 
- 
12. Davies NM., Anderson K. Clinical pharmacokinetics of diclofenac. Therapeutic insights and pitfalls. *Clin Pharmacokinet* 1997; 33: 184-213.
  13. Ditunno J., Formal Ch. Chronic Spinal Cord Injury. *N Engl J Med* 1994; 330(8): 550-556.
  14. Dupont-Versteegden E., Houle J., Gurley C., Peterson C. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise. *Am J Physiol* 1988; 275 (Cell Physiol 44): C1124-C1133.
  15. El-Sayed Y., Abdel-Hameed M., Suleiman M., Najib N. A rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic method for the determination of diclofenac sodium in serum and its use in pharmacokinetic studies. *J Pharm Pharmacol* 1988; 40: 727-729.
  16. Falconer J., Narayana P., Bhattacharjee M., Liu S. Characterization of an Experimental Spinal Cord Injury Model Using Waveform and Morphometric Analysis. *Spine* 1996; 21: 104-112.
  17. Fowler P., Shadforth M., Crook P., John V. Plasma and Synovial Fluid Concentrations of Diclofenac Sodium and its Major Hydroxylated Metabolites During Long-Term Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 25: 389-394.
  18. Fowler P., Dawes P., John V., Shotton P. Plasma and Synovial Fluid Concentrations of Diclofenac Sodium and Its Hydroxylated Metabolites During Once-Daily Administration of a 100 mg Slow-Release Formulation. *Eur J Clin Pharmacol* 1986; 31: 469-472.
  19. Fuentes-Lara G., Guízar-Sahagún G., García-López P. Effect of Experimental y Spinal Cord Injury on Salicylate Bioavailability After Oral Aspirin Administration. *J Pharmacol Toxicol* 1999; 42: 93-97.
  20. Fukuyama T., Yamaoka K., Ohata Y., Nakagawa T. A New Analysis Method for Disposition Kinetics of Enterohepatic Circulation of Diclofenac in Rats. *Drug Metab Dispos* 1994; 22(3):479-485.
- 
-

- 
21. García-López P, Pérez-Urizar J., y cols. 'An Experimental Model for the Study of Pharmacokinetic Alterations Induced by Spinal Cord Injury in the Rat. *Pharmaceutical Sciences* 1995a; 1: 133-135.
  22. García-López P. Evolución de las alteraciones farmacocinéticas del acetaminofén después de lesión traumática experimental de la médula espinal. CINVESTAV, Tesis de Maestría, 1995b, México, D.F.
  23. García-López P., Pérez-Urizar J., Ibarra A., Grijalva I., Madrazo I., Flores-Murrieta F., y cols. Comparison Between Sprague-Dawley and Wistar Rats as an Experimental Model of Pharmacokinetic Alterations Induced by Spinal Cord Injury. *Arch Med Res* 1996; 27(4):453-457.
  24. García-López P., Pérez-Urizar J., Madrazo I., Guizar-Sahagún G., Castañeda-Hernández G. Oral Paracetamol Bioavailability in Rats Subjected to Experimental Spinal Cord Injury. *Biopharm Drug Disp* 1997; 18(3): 203-211.
  25. García-López P. Alteraciones farmacocinéticas secundarias a lesión traumática experimental de médula espinal. CINVESTAV, Tesis Doctoral, 1999, México, D.F.
  26. Gibaldi *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*. Lea and Febiger USA, 1991.
  27. Gondim FA., Alencar HMP., Rodrigues CL., Graça JRV., dos Santos AA., Rola FH. Complete cervical or thoracic spinal cord transactions delay gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats. *Spinal Cord* 1999; 37: 793-799.
  28. González Esparza D. Estudio de las Alteraciones Farmacocinéticas del Diclofenac Administrado por vía Intramuscular en la Fase Crónica de la Lesión Traumática de la Médula Espinal. Tesis de Maestría, UNAM, 2002.
  29. Green B., Eismont F., O Heir J. Pre-Hospital Management of Spinal Cord Injuries. *Paraplegia* 1987; 25 : 229-238.
-

- 
- 
30. Gregory C., Vandeborne K., Castro M., Dudley A. Human and Rat Skeletal Muscle Adaptations to Spinal Cord Injury. *Can J Appl Physiol* 2003; 28(3): 491-500.
  31. Guha A., Tator Ch., Rochon J. Spinal Cord Blood Flow and Systemic Blood Pressure After Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Stroke* 1989; 20: 372-377.
  32. Guízar-Sahagún G., García-López P., Espitia L., y cols. Histochemical evidence of the increased expression of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent diaphorase in neurons of the myenteric plexus after acute spinal cord injury in adults rats. *Neurosci Lett* 1996; 206: 185-188.
  33. Guízar-Sahagún G., Castañeda-Hernández G., García-López P., Franco-Bourland R., Grijalva I., Madrazo I. Pathophysiological Mechanisms Involved in Systemic and Metabolic Alterations Secondary to Spinal Cord Injury. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 1998;41:237-240.
  34. Guyton A., Hall J. *Fisiología y Fisiopatología*. McGrawHill Interamericana Ed., 1998, 6a. edición, México.
  35. Halstead L., Feldman S., Claus-Walker J., Patel V. Drug Absorption in Spinal Cord Injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1985; 66: 298-301.
  36. Hardman J., Limbird L. Goodman & Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. McGrawHill Interamericana Ed., 2003, 10a. edición, México.
  37. Harvey R., Champe P., Mycek M. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*. J.B.Lippincott Company, USA, 1992.
  38. Houtman S., Oeseburg B., Hopman MTE. Blood Volume and Hemoglobin After Spinal Cord Injury. *Am J Phys Med Rehabil* 2000; 79: 260-265.
  39. Huang CT., DeVivo M., Stover S. Anemia in Acute Phase of Spinal Cord Injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1990; 71: 3-7.
- 
-



- 
- 
40. Ibarra A., Guizar-Sahagún G., Correa D., Kretschmer R., Grijalva I., Flores-Murrieta F., y cols. Alteration of Cyclosporin-A Pharmacokinetics after Experimental Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma* 1996; 13: 267-272.
  41. Ibarra LG., Donati SR., Contreras RV. Lesiones traumáticas de la médula espinal. Estudio epidemiológico. *Cirugía Med Urg* 1990;15:51-55.
  42. Ishikawa M., Watanabe M., Mashimo K. An evaluation of antibiotic dosage regimen for urinary tract infection in spinal cord injury patients. *Chemotherapy* 1983;31(6):628-633.
  43. John V. The Pharmacokinetics and Metabolism of Diclofenac Sodium (Voltarol\*) in Animals and Man. *Rheumatol Rehabil* 1979; Suppl.2: 22-37.
  44. Kantor Th. Use of Diclofenac in Analgesia. *Am J Med* 1986; 80(Suppl 4B):64-69.
  45. Ku E., Lee W., Kothari H., Scholer D. Effect of Diclofenac Sodium on the Arachidonic Acid Cascade. *Am J Med* 1986; 80(Suppl 4B): 18-23.
  46. Kumar S., Samuel K., Subramanian R., Braun M., Stearns R., Evans D. y cols. Extrapolation of Diclofenac Clearance from in Vitro Microsomal Metabolism Data: Role of Acyl Glucuronidation and Sequential Oxidative Metabolism of the Acyl Glucuronide. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 969-978.
  47. Laven G., Huang C., DeVivo M., y cols. Nutritional Status During the Acute Stage of Spinal Cord Injury. *Arch Phys Med Rehabil* 1989; 70: 277-282.
  48. Leeman T., Transon C., Dayer P. Cytocrome P450TB (CYP2C): a Mayor Monooxygenase Catalyzing Diclofenac 4'-Hydroxilation in Human Liver. *Life Sci* 1993; 3: 808-811.
  49. Lemke M., Faden A. Edema Development and Ion Changes in Rat Spinal Cord After Impact Trauma: Injury Dose-Response Studies. *J Neurotrauma* 1990; 7(1): 41-54.
  50. Metz GA. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2000; 17(1): 1-17.
- 
-

- 
51. Nino-Murcia M., Friedland G. Functional Abnormalities of the Gastrointestinal Tract in Patients with Spinal Cord Injuries: Evaluation with Imaging Procedures. *AJR* 1992; 158: 279-281.
  52. Panter S., Yum S., Faden A. Alteration in Extracellular Amino Acids After Traumatic Spinal Cord Injury. *Ann Neurol* 1990; 27: 96-99.
  53. Physician Desk Reference (PDR) Electronic Library. Thomson Medical Economics, 2003, USA.
  54. Peris-Ribera J., Torres-Molina F., García-Carbonell M., Aristorena J., Pla-Delfina J. Pharmacokinetics and Bioavailability of Diclofenac in the Rat. *J Biopharmacokin Biopharm* 1991; 19: 647-665.
  55. Rajendran S., Reiser J., Bauman W., y cols. Gastrointestinal Transit after Spinal Cord Injury: Effect of Cisapride. *Am J Gastroenterol* 1992; 87(11): 1614-1617.
  56. Rowland M., Tozer T. *Clinical Pharmacokinetics. Concepts and Applications.* Williams & Wilkins Pu., 3<sup>rd</sup>. Ed., USA, 1995.
  57. Sallman A. The History of Diclofenac. *Am J Med* 1986; 80(Suppl 4B): 29-33.
  58. Segal J., Brunnemann Sh., Gray D., Eltorai I. Impaired Absorption of Intramuscularly Administered Gentamicin in Spinal Cord Injury. *Curr Ther Res* 1986a; 39: 961-970.
  59. Segal J., Brunnemann S., Gordon S., Eltorai I. The Absolute Bioavailability of Oral Theophylline in Patients with Spinal Cord Injury. *Pharmacotherapy* 1986b; 6(1): 26-29.
  60. Segal J., Milne N., Brunnemann Sh., Lyons K. Metoclopramide-Induced Normalization of Impaired Gastric Emptying in Spinal Cord Injury. *Am J Gastroenterology* 1987; 82: 1143.
  61. Segal J., Brunnemann S., Gray D. Gentamicin Bioavailability and Single-Dose Pharmacokinetics in Spinal Cord Injury. *Drug Intell Clin Pharm* 1988; 22: 461-465.

- 
- 
62. Segal JL., Brunnemann S. Clinical Pharmacokinetics in Patients with Spinal Cord Injuries. *Clin Pharmacokinet* 1989; 17(2):109-129.
  63. Segal J., Brunnemann S., Eltorai I., Vulpe M. Decreased systemic clearance of lorazepam in humans with spinal cord injury. *J Clin Pharmacol* 1991; 37(7): 651-666.
  64. Segal JL., Pathak M. Optimal Drug Therapy and Therapeutic Drug Monitoring After Spinal Cord Injury: A Population-Specific Approach. *Am J Ther* 2001;8:451-463.
  65. Seifert J., Lob G., Probst J., Brendel W. Microcirculation and blood volume in rats before and after spinal cord injury. *Paraplegia* 1979; 17: 436-440.
  66. Spinal Cord Injury, Facts and Figures at a Glance. Mayo, 2001 [www.spinalcord.uab.edu](http://www.spinalcord.uab.edu)
  67. Stokes BT., Jakeman LB. Experimental Modelling of Human Spinal Cord Injury: a Model that Crosses the Species Barrier and Mimics the Spectrum of Human Cytopathology. *Spinal Cord* 2002; 40: 101-109.
  68. Stone J., Nino-Murcia M., Wolfe V., Perkas I. Chronic Gastrointestinal Problems in Spinal Cord Injury Patients: a Prospective Analysis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(9): 1114-1118.
  69. Stover S., Fine P. The Epidemiology and Economics of Spinal Cord Injury. *Paraplegia* 1987; 25: 225-228.
  70. Tabata K., Yamaoka K., Fukuyama T., Nakagawa T. Evaluation of Intestinal Absorption into the Portal System in Enterohepatic Circulation by Measuring the Difference in Portal-Venous Blood Concentrations of Diclofenac. *Pharm Res* 1995; 12(6): 880-883.
  71. Tator Ch, Fehlings M. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
  72. Torres-López J., Robles M., Pérez-Urizar J., Flores-Murrieta F., Granados-Soto V. Determination of diclofenac in micro-whole blood samples by high-performance liquid

- 
- 
- chromatography with electrochemical detection. Application in a pharmacokinetic study. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* 1997;47(II), 9: 1040-1043.
73. Tsuchiya T., Terakawa M., Ishibashi K., Noguchi H., Kato R. Disposition and Enterohepatic Circulation of Diclofenac in Dogs. *Arzneim.-Forsch/Drug Res.* 1980; 130(II):1650-1653.
74. Wall B., Williams H., Presley D., y cols. Vasopressin-independent alterations in renal water excretion in quadriplegia. *Am J Physiol* 1993; 265 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 34):R460-R466.
75. Wall B., Huch K., Mangold T., y cols. Risk Factors for Development of Proteinuria in Chronic Spinal Cord Injury. *Am J Kidney Dis* 1999; 33(5): 899-903.