

**Estudi al·lòmetric del comportament cinètic
del tiamfenicol en diferents espècies animals**

Tesi doctoral

Glòria Castells i Carles

Facultat de Veterinària

Universitat Autònoma de Barcelona

Juliol 2001

ÍNDEX

Introducció	1
AL LOMETRIA I ESCALATGE INTERESPECÍFIC	3
CONCEPTE	3
PASSAT I PRESENT	3
AL LOMETRIA I FARMACOCINÈTICA	5
TEMPS CRONOLÒGIC I TEMPS BIOLÒGIC	19
ESCALATGE INTERESPECÍFIC I APLICACIONS DELS ESTUDIS AL LOMÈTRICS	21
TIAMFENICOL	25
CARACTERÍSTIQUES FÍSICOQUÍMIQUES	25
ESPECTRE D'ACCIÓ	26
MECANISME D'ACCIÓ I DE RESISTÈNCIA BACTERIANA	26
PROPIETATS FARMACOCINÈTIQUES	28
REACCIONS ADVERSES I TOXICITAT	32
INDICACIONS TERAPÈUTIQUES	33
Objectius	35
Material i mètodes	39
PRODUCTES QUÍMICS	41
ANIMALS	41
TRACTAMENT I PRESA DE MOSTRES	42
ANÀLISI DE LES MOSTRES	42
MÈTODE D'EXTRACCIÓ	42
MÈTODE DE DETERMINACIÓ	43
ANÀLISI FARMACOCINÈTICA	43
ANÀLISI DELS PERFILS TEMPS-CONCENTRACIÓ	43
CÀLCUL DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	44
ANÀLISI AL LOMÈTRICA I ESTADÍSTICA	45
EQUACIONS AL LOMÈTRIQUES	45
AJUSTOS EN COORDENADES DE TEMPS FARMACOCINÈTIC	46

Resultats	49
DISPOSICIÓ DEL TAP EN LES DIFERENTS ESPÈCIES	51
PERFILS TEMPS-CONCENTRACIÓ PLASMÀTICA	51
PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	53
ESTUDI AL LOMÈTRIC DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	54
EQUACIONS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	54
VALORS PREDITS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	55
DISPOSICIÓ DEL TAP EN DIFERENTS COORDENADES DE TEMPS	57
TEMPS CRONOLÒGIC I TEMPS FARMACOCINÈTICS	57
VALORS PREDITS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	61
Discussió	63
DISPOSICIÓ DEL TAP EN LES DIFERENTS ESPÈCIES	65
ESTUDI AL LOMÈTRIC DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS	69
DISPOSICIÓ DEL TAP EN DIFERENTS COORDENADES DE TEMPS	73
IMPORTÀNCIA PRÀCTICA DELS RESULTATS	76
Conclusions	79
Bibliografia	83

Introducció

AL LOMETRIA I ESCALATGE INTERESPECÍFIC

CONCEPTE

La característica diferencial que, a primer cop d'ull, esdevé més òbvia entre un ratolí i un elefant és la seva mida. Tot i que, si s'estudien de prop, hi ha moltes diferències entre ells, és sorprenent constatar que són més les similituds que els apropen que no les diferències que els separen: ambdós són mamífers, tenen una organització cel·lular molt similar, òrgans que els permeten realitzar les mateixes funcions fisiològiques bàsiques, etc. Es podria arribar a concloure, d'aquesta manera, que un ratolí, a grans trets, és un elefant en miniatura. Evidentment, aquesta seria una conclusió errònia, perquè el fet que dos organismes siguin similars no significa que siguin iguals i, sovint, les diferències entre ells són més interessants –fins i tot claus– que no les similituds que comparteixen.

En aquest sentit l'al·lometria estableix relacions entre diferents espècies escollint, com a variable principal entre elles, característiques físiques com ara el pes corporal, el pes del cervell, la superfície corporal i d'altres trets indicatius de la grandària de l'animal. De fet, des del punt de vista ontogenètic i filogenètic, els canvis de mida en els éssers vius tenen conseqüències estructurals i funcionals, i per això no és estrany que moltes variables morfològiques, fisiològiques, bioquímiques i farmacocinètiques es puguin escalar en funció del pes corporal.

PASSAT I PRESENT

L'escalatge interespecífic es pot considerar una disciplina relativament nova, tot i que es podria dir que la primera referència d'un estudi al·lomètric data de l'any 1637, quan Galileo Galilei va exposar la relació entre la mida de l'esquelet i la massa corporal (Galilei, 1637). Més endavant també hi ha exemples d'aquest tipus, com ara el primer estudi experimental que relaciona el ritme metabòlic basal amb la superfície i el pes corporals, realitzat en gossos de diferents mides (Rubner, 1883), i un estudi de l'any 1888, dut a terme per Von Hoesslin, en el qual es relacionava el consum d'oxigen amb la superfície i el pes corporals en peixos (ambdós estudis citats a Schmidt-Nielsen, 1970). Però va ser Huxley (1932) qui va establir la relació lineal, a escala logarítmica, entre la mida d'un òrgan (Y) i el pes corporal (W) de diferents espècies animals:

$$\log Y = b \log W + \log a$$

on b és el pendent i log a és l'ordenada en l'origen. L'antilogaritme d'aquesta equació es coneix amb el nom d'*equació al·lomètrica*:

$$Y = a W^b$$

El primer autor que va utilitzar aquesta expressió per a establir relacions quantitatives entre el pes corporal i paràmetres fisiològics dels mamífers fou Adolph (1949), que elaborà 33 equacions per a propietats fisiològiques com ara el consum d'oxigen, els ritmes respiratori i cardíac, el ritme metabòlic basal, o el pes de diferents òrgans. A partir d'aquestes equacions va establir, a més, relacions entre els diferents paràmetres fisiològics, partint de la base que tots ells estaven connectats per un tret comú: el pes corporal.

Stahl (1965) estudià el pes dels principals òrgans dels primats i la massa corporal de cadascun i va comparar la relació al·lomètrica obtinguda amb la mateixa relació en altres mamífers, de manera que ambdues resultaren molt semblants. Aquestes observacions, diu Mordenti (1986a), suggereixen que tots els mamífers tenen en comú un patró bàsic de "disseny fisiològic" i que poden ser comparats com a "sistemes físics" establint un criteri de similitud a partir de les equacions al·lomètriques corresponents.

Al final dels anys 60 començaren a aparèixer treballs que aplicaven els criteris al·lomètrics a l'estudi cinètic dels fàrmacs. Mellet (1969) utilitzà per primera vegada el gràfic logarítmic (*log-log plot*) per a l'escalatge de paràmetres en l'estudi de fàrmacs. Un any més tard, Dedrick et al. (1970), en un estudi ja clàssic sobre el metotrexà, aplicaven una escala de temps fisiològic per tal d'aconseguir la superposició de les corbes temps-concentració plasmàtica de diferents espècies. Wei_ et al. (1977) van introduir l'ús de les equacions al·lomètriques en l'escalatge de paràmetres farmacocinètics de diverses espècies. Durant la primera meitat dels anys 80 es va començar a aplicar l'escalatge al·lomètric a diferents substàncies, entre elles l'antipirina, la cafeïna i alguns antibiòtics, en els treballs de Boxenbaum (1980, 1984), Bonati et al. (1985) i Mordenti (1985a), i també es van introduir les primeres aplicacions del concepte de temps farmacocinètic. Entre el 1986 i el 1990, les publicacions foren escasses, ja que les limitacions que suposa treballar amb un nombre elevat d'espècies diferents i el temps que representa un estudi d'aquest tipus feren davallar l'interès en el tema.

La necessitat de desenvolupar fàrmacs antitumorals, així com l'interès creixent en els carcinògens ambientals, van fer revifar aquest tipus d'estudis (Ibrahim & Boudinot, 1989; Gombar et al., 1990; Patel et al., 1990). Durant la dècada dels anys 90, el nombre d'estudis que apliquen l'al·lometria a l'escalatge interespecífic és elevat, tant de fàrmacs nous (Izumi et al., 1996; Sanwald-Ducray & Dow, 1997; Brocks & Toni, 1999; Lavé et al., 1999; Richter et al., 1999; Ward et al., 1999), com d'altres prou coneguts (Gronert et al., 1995; Riviere et al., 1997).

AL·LOMETRIA I FARMACOCINÈTICA

El procediment al·lomètric aplicat a l'escalatge interespecífic, tot i que és un procés completament empíric, és relativament fàcil d'aplicar i no requereix un tractament matemàtic sofisticat. A diferència dels models fisiològics, que ofereixen una avaluació dels mecanismes implicats en els processos de distribució i eliminació dels fàrmacs i estan limitats per una major complexitat, els models al·lomètrics no pretenen determinar cap mecanisme ni justificar cada paràmetre farmacocinètic des del punt de vista fisiològic, sinó que simplement examinen les relacions entre la mida corporal i els paràmetres cinètics.

La premissa principal de la qual parteix el concepte d'escalatge al·lomètric és la següent: si la majoria de paràmetres fisiològics, com ara el flux sanguini hepàtic, la filtració glomerular, el ritme cardíac o el pes d'òrgans específics són funció de la grandària de l'espècie animal –és a dir, del pes corporal–, la conclusió lògica és que els principals paràmetres farmacocinètics – Cl , V_d i $t_{1/2}$ – també ho siguin. Això pot arribar a ser cert en molts casos, però hi ha tot un seguit de peculiaritats en la disposició dels fàrmacs que fan que les coses no siguin tan senzilles com semblen, i que exigeixen cautela a l'hora d'interpol·lar paràmetres –i, en conseqüència, pautes posològiques– entre espècies.

De manera general, quan es planteja un estudi d'escalatge interespecífic de paràmetres farmacocinètics utilitzant un model al·lomètric, s'han de seguir els passos següents (Mordenti, 1986a):

1. Determinar els paràmetres farmacocinètics, en general després de l'administració única del fàrmac per via intravenosa (iv) i a la dosi terapèutica recomanada, almenys en quatre espècies diferents. Per a la determinació dels paràmetres a partir dels perfils temps-concentració plasmàtica es poden utilitzar mètodes compartimentals o no compartimentals.
2. Realitzar una anàlisi de regressió lineal de la relació entre el pes corporal i el valor del paràmetre en una escala logarítmica (*log-log plot*), per tal d'obtenir les equacions al·lomètriques per a cada paràmetre. Si és necessari, es pot incorporar a l'anàlisi qualsevol paràmetre fisiològic que es consideri oportú (pes del cervell, longevitat, etc.).
3. Estudiar la correcció de les relacions obtingudes mitjançant els mètodes estadístics adequats i contrastar-les amb la bibliografia disponible.
4. Solucionar les equacions al·lomètriques obtingudes incorporant la mitjana del pes de l'espècie de la qual es vol conèixer el valor del paràmetre.
5. Utilitzar els valors dels paràmetres obtinguts de la interpolació per a una espècie per a elaborar equacions que descriguin la disposició del fàrmac en aquella espècie.
6. Comprovar, mitjançant l'estudi *in vivo* en l'espècie de destí o bé a partir de dades obtingudes de la literatura, la idoneïtat de l'equació.

FARMACOCINÈTICA

La Farmacocinètica és la part de la Farmacologia que estudia l'evolució temporal dels fàrmacs en l'organisme i interpreta la manera com l'organisme "disposa" d'aquests fàrmacs, és a dir, els processos que tenen lloc des que el fàrmac és administrat fins que s'elimina. Aquesta evolució al llarg del temps s'esquematitza mitjançant els anomenats processos LADME, sigles que agrupen els processos d'alliberació, absorció, distribució, metabolisme i excreció.

L'eina principal de què es disposa per a estudiar aquests processos és la corba de concentracions de fàrmac en els fluids biològics (normalment en plasma o en orina) respecte del temps. Així, es considera que la representació de les concentracions plasmàtiques o urinàries al llarg del temps reflecteix el conjunt de processos que defineixen el comportament cinètic d'un fàrmac.

Els processos LADME s'ajusten, en la majoria dels casos, a tres tipus de cinètica: cinètica d'ordre u, en la qual la velocitat del procés és proporcional a la concentració de fàrmac; cinètica d'ordre zero, caracteritzada pel fet que la velocitat del procés és constant i independent de la concentració; i cinètica d'ordre mixt o de Michaelis-Menten, on la velocitat depèn tant de la concentració com de la capacitat intrínseca del sistema biològic per a "processar" el fàrmac.

Cadascun dels processos LADME que caracteritzen la disposició d'un fàrmac pot presentar un tipus de cinètica diferent, però en la majoria de casos el procés cinètic resultant s'ajusta a una cinètica de primer ordre, típica dels processos passius, i que es descriu mitjançant l'equació següent:

$$dC/dt = k \cdot C$$

en la qual C representa la concentració del fàrmac en el lloc on es produeix el procés i k és la constant de velocitat que regeix aquest procés. L'expressió dC/dt representa la variació de la concentració en funció del temps, és a dir, la velocitat de canvi de concentració. La constant k prendrà un valor positiu o negatiu segons si el procés implica un augment o una disminució de la concentració en el lloc en estudi. Per tal de determinar el valor de C en cada temps t s'ha d'integrar aquesta equació, de manera que s'obté:

$$C = C_0 \cdot e^{k \cdot t}$$

és a dir, una equació exponencial en la qual C_0 és la concentració inicial de fàrmac, C és la concentració romanent mesurada en qualsevol instant t, i e és la base dels logaritmes neperians. La representació gràfica d'aquesta equació en un eix de coordenades que relacioni temps i concentració serà una corba exponencial, en la qual la caiguda de la concentració serà més pronunciada com més concentració hi hagi en el sistema. Aquesta corba, com qualsevol

procés d'ordre u , es linealitzava quan es prenen les concentracions en logaritmes en lloc dels valors numèrics:

$$\ln C = -k \cdot t + \ln C_0$$

expressió que defineix l'equació d'una recta de pendent k i ordenada en l'origen $\ln C_0$.

Quan tots els processos LADME d'un fàrmac són d'ordre u dins un rang de dosis terapèutic, es parla de *linealitat cinètica*, que permet extrapolar els resultats obtinguts després de l'administració d'una dosi determinada a qualsevol altra dosi del rang (Principi de Superposició).

Anàlisi dels perfils temps-concentració

L'anàlisi del comportament cinètic d'un fàrmac es du a terme mitjançant l'estudi dels anomenats *paràmetres farmacocinètics*, que es calculen a partir de l'anàlisi matemàtica de les corbes de concentració plasmàtica del fàrmac al llarg del temps. El càlcul d'aquests paràmetres es pot dur a terme analitzant les corbes amb mètodes compartimentals o no compartimentals, tots dos amb els seus avantatges i inconvenients.

Els mètodes compartimentals es basen en la idea que l'organisme es pot representar com un sistema de compartiments que s'intercomunique. Un compartiment no és una regió fisiològica o anatòmica real, sinó que es considera com un teixit o grup de teixits que tenen un flux sanguini i una afinitat pel fàrmac similars, de manera que es considera que el fàrmac es distribueix uniformement en cada compartiment (Shargel & Yu, 1999). En aquests models es considera que el procés resultant del conjunt dels processos LADME és de primer ordre, de manera que s'assumeix linealitat cinètica i s'aplica el principi de superposició.

L'ajust de la corba de nivells plasmàtics a un model determinat es tradueix en una equació que descriu el comportament del fàrmac en l'organisme i que es basa en l'estimació de les constants de velocitat d'intercanvi de fàrmac entre compartiments. Segons la complexitat del model escollit, variarà el nombre de paràmetres necessaris per a definir aquesta equació, a partir de la qual es calculen els valors dels paràmetres farmacocinètics. Així, un model compartimental és una forma senzilla d'agrupar els teixits en un o més compartiments cap a on els fàrmacs es desplacen des d'un compartiment central –generalment el plasma–, i a la inversa. D'aquesta manera, a partir de la mesura de la concentració del fàrmac en el plasma es pot avaluar la seva disposició en els diferents teixits on es distribueix, simplement per la premissa que la quantitat de fàrmac que roman en l'organisme en cada moment serà la suma de la quantitat de fàrmac present en els diferents compartiments.

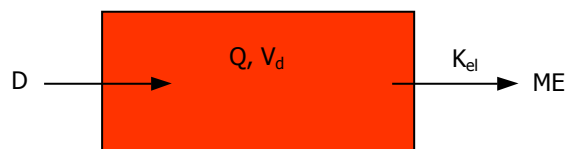
Per tant, l'avantatge dels models compartimentals és que es pot seguir el curs del fàrmac en l'organisme al llarg del temps, és a dir, representen un model que descriu els processos d'absorció, distribució i eliminació (metabolisme i/o excreció). L'inconvenient

d'aquesta aproximació és precisament l'assumpció d'un model, ja que en realitat no es coneix la distribució exacta del fàrmac en l'organisme i, per tant, s'està considerant que els teixits estan "agrupats" en un nombre determinat de compartiments quan, en definitiva, cada teixit, fins i tot cada cèl·lula, podria ser considerat com un compartiment diferent. Un dels problemes més freqüents que apareixen quan s'utilitza aquest tipus d'anàlisi és que no tots els animals que s'estan analitzant s'ajusten al mateix model, i aleshores l'anàlisi de les dades mitjançant mètodes compartimentals es fa més difícil.

Model monocompartimental

El model monocompartimental considera l'organisme com un compartiment únic de caràcter fonamentalment aquós. Per tant, és el model més simple que es pot concebre des del punt de vista funcional i també és el més senzill d'explicar matemàticament.

Aquest model assumeix que després de l'administració –i absorció, si és una administració extravasal– el fàrmac es distribueix uniformement i de manera instantània en tot el volum de l'organisme. Com que es considera que l'organisme és un sol compartiment, la concentració serà la mateixa en el plasma –el qual és una part d'aquest compartiment– que en qualsevol altra part de l'organisme. D'altra banda, com que es considera que la consecució de l'equilibri de concentracions entre el plasma i la resta de teixits és immediata, les constants de distribució se suposen d'un ordre infinit i, per tant, no es consideren en el moment dels càlculs i només es quantifiquen els processos d'entrada de fàrmac a l'organisme (absorció) i de sortida (eliminació). L'esquema d'un model d'aquest tipus, en una administració intravenosa, seria el següent:



on D és la dosi administrada, ME és la quantitat de fàrmac eliminat per metabolisme i excreció en el mateix moment en què es mesura la quantitat de fàrmac en el plasma (Q), V_d és el volum aquós en què es distribueix el fàrmac i K_{el} és la constant de la velocitat d'eliminació, és a dir, la constant que regeix la desaparició del fàrmac del plasma i, per tant, de l'organisme. L'equació que defineix aquest model és:

$$Q = D \cdot e^{-K_{el} \cdot t}$$

on Q és la quantitat a temps t.

Els paràmetres cinètics més importants que defineixen aquest model són: la K_{el} , definida anteriorment; la semivida biològica, que deriva d'aquesta constant ($t_{1/2}$); el volum de distribució (V_d), i l'aclariment plasmàtic (Cl).

La semivida biològica es defineix com el temps necessari perquè la quantitat o concentració de fàrmac disminueixi a la meitat, i es relaciona amb la K_{el} mitjançant l'expressió següent, fàcilment deduïble a partir de l'equació del model en forma de logaritmes neperians:

$$t_{1/2} = 0.693 / K_{el}$$

El volum de distribució es defineix, teòricament, com el volum de compartiment en què és capaç de dissoldre's una quantitat determinada de fàrmac. En un model monocompartimental s'expressa com el volum en què es dissol la dosi administrada, de manera que esdevé un factor de proporcionalitat entre la dosi administrada (D) i la concentració plasmàtica en aquell moment, és a dir, C_0 :

$$V_d = D / C_0$$

L'equació corresponent a les quantitats es pot transformar en concentracions dividint-la pel volum de distribució, ja que aquest volum és constant i no depèn de la quantitat de fàrmac present en l'organisme. Com que el que es pot obtenir experimentalment és la concentració plasmàtica en l'organisme en cada moment i no la quantitat de fàrmac, aquesta transformació serveix per a poder treballar amb les corbes temps-concentració. Per tant, l'equació del model quedaria com segueix:

$$C = C_0 \cdot e^{-K_{el} \cdot t}$$

Aquest paràmetre no es refereix a un volum real, ja que hi ha tot un seguit de factors que el falsegen en la pràctica, com ara la unió a proteïnes plasmàtiques o tissulars. Per això es coneix com a volum de distribució aparent, un factor que relaciona en tot moment la quantitat de fàrmac i la concentració i, per tant, permet seguir l'evolució temporal de la dosi administrada en l'organisme.

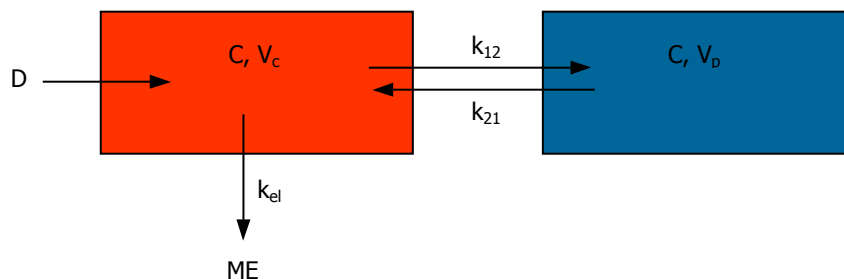
L'aclariment plasmàtic es defineix com el volum de plasma que els òrgans encarregats de l'eliminació depuren de fàrmac per unitat de temps. Si es considera un model monocompartimental, aquesta definició es pot reinterpretar com el volum de distribució del fàrmac en l'organisme que és depurat per unitat de temps, que traduït al llenguatge farmacocinètic es pot resumir en l'expressió següent:

$$Cl = V_d \cdot K_{el}$$

Amb aquestes tres equacions, doncs, es poden determinar els principals paràmetres farmacocinètics que descriuen la disposició d'un fàrmac en l'organisme: $t_{1/2}$, V_d i Cl . Les úniques dades que es necessita saber per a calcular-los són la dosi administrada i el valor experimental de la K_{el} , que es pot calcular a partir de la recta de regressió traçada a partir dels punts experimentals.

Model bicompartimental

La majoria de fàrmacs no poden ser descrits per un model tan simple com el monocompartimental, ja que el seu perfil semilogarítmic temps-concentració no s'ajusta a una recta. Aquest comportament reflecteix el fet que molts fàrmacs no es comporten com si l'organisme fos un sol compartiment, sinó com si estigués organitzat en diferents regions. El perfil de disposició d'aquest tipus de fàrmacs, després d'una administració intravenosa, s'identifica per la presència de dues fases ben diferenciades en el gràfic de temps-concentració: la fase α , durant la qual el fàrmac es distribueix des de l'anomenat compartiment central (el plasma) cap al compartiment perifèric (teixits), i la fase β , quan el fàrmac s'elimina des del compartiment central. Cadascuna de les dues fases presenta velocitats de disposició diferents, i això és precisament el que caracteritza un model bicompartimental. L'esquema d'un model d'aquest tipus seria el següent:



on k_{12} i k_{21} són les constants de distribució del fàrmac entre el compartiment central (en vermell) i el perifèric (en blau), k_{10} és la constant d'eliminació des del compartiment central, i V_c i V_p són els volums en què es distribueix el fàrmac en cada compartiment. L'equació que explica aquest comportament és el resultat de dos components exponencials:

$$C_p = A \cdot e^{-\lambda_1 t} + B \cdot e^{-\lambda_2 t}$$

on C_p és la concentració plasmàtica al temps t ; A i B són els punts de tall amb l'eix de les ordenades de cada fase, i λ_1 i λ_2 són els pendents de les rectes definides per cada fase. Per definició, la constant de disposició λ_1 és més gran que la constant λ_2 , i per aquest motiu les fases λ_1 i λ_2 s'anomenen fase de disposició ràpida i fase de disposició lenta, respectivament. Tot i que són fases híbrides, representatives de tots els processos, la fase ràpida s'identifica

majoritàriament amb els processos de distribució, mentre que la fase lenta es considera principalment d'eliminació.

Les constants λ_1 i λ_2 són, en realitat, una composició de les constants de distribució entre compartiments k_{12} i k_{21} i la constant d'eliminació des del compartiment central k_{10} . Les relacions entre elles són les següents:

$$k_{21} = (A \cdot \lambda_1 + B \cdot \lambda_2) / (A+B)$$

$$k_{10} = \lambda_2 / k_{21}$$

$$k_{12} = \lambda_1 + \lambda_2 - k_{21} - k_{10}$$

A partir d' λ_1 i λ_2 es calcula una semivida per a cada fase: la semivida de distribució ($t_{1/2d}$) i la semivida d'eliminació ($t_{1/2e}$). També es pot calcular una semivida d'eliminació des del compartiment central, és a dir, la semivida k_{10} ($t_{1/2k10}$):

A l'igual que en el model monocompartimental, en el bicompartimental es pot calcular el volum de distribució, però en aquest cas hi ha diferents valors d'aquest paràmetre, ja que hi ha més d'un compartiment. Bàsicament es calcula el volum de distribució al compartiment central (V_c), el volum de distribució al compartiment perifèric (V_p) i el volum de distribució total (V_t). El V_c es calcula de manera anàloga a com s'ha vist per al model monocompartimental:

$$V_c = D / A+B$$

Quant al V_t , l'estimació més aproximada que se'n pot fer és l'anomenat volum de distribució en l'estat estacionari (V_{ss}), és a dir, en el moment en què la distribució i l'eliminació s'equilibren, i que és un paràmetre independent de l'eliminació, tant matemàticament com fisiològica:

$$V_{ss} = V_c \cdot (k_{12} + k_{21} / k_{21})$$

Un altre volum de distribució que es calcula és l'anomenat volum en l'equilibri de pseudodistribució (V), paràmetre relacionat directament amb l'eliminació del fàrmac:

$$V = k_{10} \cdot V_c / \lambda_2$$

Quan es coneix el valor de V_c es pot calcular directament la Cl, ja que, com que l'aclariment té lloc des del compartiment central, es calcula essencialment de la mateixa manera que en el model monocompartimental:

$$Cl = k_{10} \cdot V_c$$

INTERPRETACIÓ DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS I RELACIÓ AL·LOMÈTRICA

La correcta interpretació dels paràmetres farmacocinètics té una gran importància a l'hora d'utilitzar-los per a definir la disposició del fàrmac i la seva aplicació clínica. El nombre de paràmetres diferents que es poden calcular, sobretot quan s'apliquen models multicompartimentals, fa que s'hagi de posar cura quan s'interpreta el seu significat fisiològic, a fi que se'n faci una utilització adequada en cada cas. Els paràmetres farmacocinètics més freqüentment interpolats en al·lometria són el volum de distribució, l'aclariment plasmàtic i la semivida.

Volum de distribució

Una premissa acceptada de manera general és que només la fracció de fàrmac lliure –és a dir, no unit a proteïnes– pot difondre a través de les membranes que restringeixen el pas des del compartiment vascular als compartiments tissulars i a la inversa. Per tant, qualsevol canvi en la unió del fàrmac a proteïnes plasmàtiques o tissulars pot afectar la distribució del fàrmac en l'organisme. Des del punt de vista cinètic, la distribució del fàrmac a tots els teixits on té capacitat d'accedir s'expressa sovint en termes de volum de distribució aparent, que no es refereix a un volum real. El volum de distribució es pot expressar en funció del volum d'aigua corporal i de la relació entre la fracció de fàrmac lliure en el plasma i la fracció lliure en els teixits (Øie & Tozer, 1979). Així, quan un fàrmac no s'uneix de manera significativa a les proteïnes plasmàtiques i tissulars, les dues fraccions són iguals, i aleshores el volum de distribució és aproximadament igual al volum d'aigua corporal. D'altra banda, quan la unió del fàrmac a proteïnes plasmàtiques és elevada, la fracció lliure és insignificant, i llavors el volum de distribució és extremament baix, ja que gairebé la totalitat de fàrmac roman en el plasma.

El volum de distribució, que és funció directa de la unió als teixits –i, per tant, de la massa tissular–, normalment correlaciona bé amb el pes corporal. Però com que la capacitat d'unió a proteïnes del fàrmac influeix en el seu valor, i aquesta capacitat pot variar entre espècies –variació que generalment reflecteix diferències en la composició i conformació d'aquestes proteïnes (Baggot, 1977; Riond & Riviere, 1989; Riond & Riviere, 1990)–, l'escalatge interespecífic del volum de distribució és difícil quan la capacitat d'unió a proteïnes del fàrmac és diferent en les espècies escalades, ja que no hi ha relació al·lomètrica entre la capacitat d'unió a proteïnes i el pes corporal (Lin, 1995). Quan un fàrmac presenta una escassa unió a proteïnes, el volum de distribució reflecteix el volum d'aigua corporal total, i en aquest cas sí que és possible escalar aquest paràmetre entre espècies, ja que l'aigua corporal total presenta una relació al·lomètrica amb el pes corporal (Chappell & Mordenti, 1991).

Com s'ha vist anteriorment, en farmacocinètica s'utilitzen tres paràmetres bàsics per a descriure la distribució d'un fàrmac: V_c , V_{ss} i V . La pregunta és quina d'aquestes expressions del volum de distribució s'ha d'utilitzar en l'anàlisi farmacocinètica. La resposta depèn, en realitat, del que es vol obtenir a través d'aquesta dada. El V_c , que només proporciona

informació sobre la relació entre la quantitat i la concentració en el compartiment central, és el que s'utilitza per a calcular el valor de la Cl , i s'empra en alguns càlculs de l'administració per infusió. El V_{ss} , que en realitat és el valor que més s'ajusta al V_t en un model bicompartimental, es considera el més adequat per a l'estudi dels efectes de determinades alteracions fisiològiques sobre la distribució, ja que és un paràmetre independent de l'eliminació. Per últim, el V és el que normalment s'utilitza en l'elaboració de pautes posològiques, ja que reflecteix la distribució durant la fase terminal d'eliminació, que és la fase més important en aquest tipus d'estudis. En l'escalatge interespecífic, tots tres s'han predit de manera indistinta i, de fet, presenten relacions al·lomètriques acurades (Gronert et al., 1995; Izumi et al., 1996; Sanwald-Ducray & Dow, 1997; Brocks & Toni, 1999; Richter et al., 1999; Ward et al., 1999). Mahmood (1998a) realitza un estudi en el qual prediu el valor dels tres volums de distribució en humans per a diferents fàrmacs a partir d'equacions al·lomètriques elaborades amb dades de diferents espècies. L'autor conclou que el V_c és el que permet una predicció més exacta, seguit del V_{ss} , i recomana que s'utilitzi aquest paràmetre per a l'escalatge interespecífic, especialment si el valor de la Cl , de la qual depèn V , no pot ser predit amb la fiabilitat suficient. Altres autors, però, proposen el V_{ss} com al més adequat per a aquests estudis, ja que no l'afecten canvis interespecífics en els mecanismes d'eliminació perquè és independent d'aquests processos (Riviere, 1999).

Aclariment plasmàtic o *clearance*

L'aclariment plasmàtic defineix la capacitat de l'organisme per a depurar la sang de fàrmac. Els fàrmacs poden ser eliminats de l'organisme per diferents vies, de les quals les més importants són la via renal i la via hepàtica. Així doncs, l'aclariment plasmàtic total (Cl_T) és, en realitat, la suma dels aclariments renal, hepàtic, i d'altres minoritaris (pulmonar, etc.), de manera que:

$$Cl_T = Cl_R + Cl_H + Cl_{ALTRES}$$

De manera general, quan els fàrmacs s'eliminen directament per via renal són excretats en forma inalterada. En canvi, l'eliminació hepàtica comporta una biotransformació del fàrmac que dona com a productes diferents metabòlits. El fetge és l'òrgan metabolitzador per excel·lència, i és la via hepàtica la que condensa majoritàriament els sistemes metabòlics d'eliminació de fàrmacs. El metabolisme de fàrmacs es divideix en reaccions de Fase I i reaccions de Fase II. Les primeres afegixen o deixen al descobert grups polars en els fàrmacs mitjançant reaccions d'oxidació, reducció, hidròlisi, etc., mentre que les segones generen metabòlits per conjugació de substrats endògens (acetilació, glucuronació, etc.). Dintre de les reaccions de Fase I, les més importants són les d'oxidació, entre les quals hi ha les mediades per sistemes enzimàtics particulars englobats sota el terme MFO (*mixed-function oxidase*

system), l'exemple més conegut del quals és el sistema del citocrom P450. La via metabòlica que segueix un fàrmac depèn de la naturalesa d'aquest fàrmac: pot patir reaccions de Fase I o de Fase II, o bé ésser modificat primer per una reacció de Fase I i el producte resultant passar a ser substrat d'una reacció de Fase II. Les combinacions són moltes i variades i els sistemes enzimàtics que hi poden intervenir són igualment nombrosos.

La Cl_T dels fàrmacs eliminats majoritàriament pel fetge serà aproximadament igual a l'aclariment hepàtic (Cl_H). La Cl_H depèn del flux sanguini hepàtic (Q_H) i de l'anomenat aclariment intrínsec (Cl_{int}), el qual es defineix com la màxima habilitat del fetge per a metabolitzar un fàrmac. La fórmula que els relaciona és la següent:

$$Cl_H = Q_H [Cl_{int} / (Q_H + Cl_{int})]$$

on l'expressió $Cl_{int} / (Q_H + Cl_{int})$ es coneix amb el nom de velocitat d'extracció o *extraction ratio* (E_H).

Quan el fetge presenta una elevada capacitat de metabolitzar un determinat fàrmac, la velocitat d'eliminació d'aquest fàrmac només dependrà de la quantitat que n'arribi al fetge a través de la sang. En altres paraules, quan la Cl_{int} sigui molt elevada, el factor limitant de l'eliminació serà Q_H , ja que, com més alt sigui el flux hepàtic, més ràpidament s'eliminarà el fàrmac. Els fàrmacs amb aquesta característica s'anomenen fàrmacs d'aclariment elevat o d'extracció elevada, i normalment presenten valors de $E_H > 0.8$.

Els anomenats fàrmacs d'aclariment baix o d'extracció baixa ($E_H < 0.2$) presenten una eliminació independent del flux sanguini hepàtic i essencialment dependent de la capacitat del sistema enzimàtic per a eliminar la fracció lliure de fàrmac, és a dir, de la Cl_{int} . En aquest cas, doncs, l'eliminació dependrà de la capacitat d'unió a proteïnes plasmàtiques i de l'activitat metabòlica individual.

De la mateixa manera es pot calcular una velocitat d'extracció tenint en compte el flux sanguini cardíac ($E = Cl/Q$), de manera que es té en consideració tant el flux hepàtic com el renal i d'altres, i així es pot avaluar la capacitat d'aclariment total.

Quan es coneix el significat fisiològic de la Cl i els processos que involucra, s'entén que sigui un paràmetre útil en l'estudi de la fisiologia dels processos d'eliminació. Els valors de Cl poden reflectir alteracions fisiològiques que influeixen en l'eliminació, com ara la insuficiència renal o hepàtica, i en casos de desajustos metabòlics o de diferències en l'activitat metabòlica individual, ja que en aquestes condicions s'aprecien alteracions en el valor de la Cl .

La Cl presenta una bona correlació amb el pes, amb certes excepcions. Els fàrmacs d'extracció elevada, la velocitat d'eliminació dels quals depèn del flux sanguini hepàtic, presenten una bona correlació entre la Cl i el pes, ja que el flux sanguini hepàtic és funció directa del pes corporal (Boxenbaum, 1980). En el cas dels fàrmacs d'extracció baixa, en els quals l'eliminació depèn de la capacitat d'unió a proteïnes plasmàtiques i de l'activitat

metabòlica individual, la correlació entre la CI i el pes corporal no és, en general, gaire bona. Els fàrmacs d'aclariment baix s'eliminen principalment mitjançant sistemes enzimàtics MFO i sembla que és aquí on hi ha problemes a l'hora d'establir relacions al·lomètriques acurades. Partint de la base que l'activitat enzimàtica per unitat de massa hepàtica és una relació constant entre espècies (Boxenbaum, 1984), la Cl_{int} hauria de presentar una bona correlació amb el pes del fetge, però no és tan senzill com sembla. Com ja s'ha comentat anteriorment, no existeix una relació al·lomètrica clara entre la capacitat d'unió a proteïnes i el pes corporal, i la CI d'aquest tipus de fàrmacs està molt influenciada per aquest factor. D'altra banda, està demostrat que hi ha un elevat grau d'heterogeneïtat entre espècies en els processos de metabolisme, tant de Fase I com de Fase II (Paine, 1995), i la major i més important font de variabilitat correspon a les diferències en els isoenzims del citocrom P450. Tot i que el contingut d'aquests enzims presenta una bona relació al·lomètrica amb el pes corporal, les diferències en els isoenzims fan més difícil la interpolació.

De totes maneres, i de forma general, si el metabolisme del fàrmac té un impacte farmacològic o toxicològic, la predicció serà inviable. En canvi, si l'únic resultat del metabolisme és la producció, per exemple, d'un metabòlit inactiu, i això no afecta el perfil de disposició del fàrmac ni tampoc la dels metabòlits procedents de les reaccions de Fase I, la relació al·lomètrica es pot utilitzar per a interpolar (Riviere et al., 1997). En el cas d'interpolació de valors de CI d'humans, però, ens trobem amb un problema afegit quan treballem amb aquest tipus de fàrmacs, ja que, tot i que en alguns les relacions al·lomètriques interespecífiques són bones, quan es vol predir el paràmetre en humans s'obtenen valors molt diferents dels observats (Campbell & Ings, 1988). Boxenbaum i D'Souza (1987a,b) proposen que això és degut a adaptacions evolutives que conferirien alguns avantatges a l'home sobre la resta d'animals, un procés que podria estar influenciat per la neotènia, és a dir, la retenció de caràcters juvenils en els descendents adults com a resultat d'un retard en el desenvolupament somàtic (Gould, 1977). Aquest fenomen permet que en els humans adults es conservin formes i velocitats de creixement característiques d'estats juvenils dels ancessors primats, i seria el responsable de característiques específiques, entre les quals es troba una disminució de l'activitat dels sistemes MFO.

En el cas de fàrmacs que s'excreten principalment en forma inalterada per via renal i l'eliminació és, essencialment, un procés de filtració, es pot dir que la Cl_T és aproximadament igual a l'aclariment renal (Cl_R). La capacitat de filtració dels ronyons presenta una relació al·lomètrica amb el pes corporal, tal i com demostra Adolph (1949) quan mesura la CI de la creatinina. Per tant, en general, la CI dels fàrmacs excretats per via renal correlacionarà bé amb el pes corporal. Però l'excreció renal pot tenir lloc mitjançant tres mecanismes diferents: filtració glomerular, secreció tubular i reabsorció tubular (Shargel & Yu, 1999), de manera que es pot donar el cas que, per a un fàrmac determinat, el mecanisme d'excreció renal sigui diferent entre espècies, i això dificultarà l'escalatge interespecífic del fàrmac. Mahmood (1998b) realitza

un estudi amb fàrmacs eliminats per via renal en humans, escalant els valors de la Cl_T i la Cl_R observats en diferents espècies. Els valors predits d'aquests paràmetres a partir de les equacions al·lomètriques corresponents resulten ser més baixos que els observats, tot i que aquestes relacions al·lomètriques presenten una bona correlació entre espècies. Aquest exemple demostra que, tot i que tradicionalment s'ha considerat que la Cl dels fàrmacs excretats per via renal presenta bones relacions al·lomètriques, hi ha molts factors a tenir en compte a l'hora de predir valors a partir d'aquestes equacions. I és que, i això és vàlid tant per a la Cl com per a qualsevol paràmetre que es vulgui interpolar, una bona correlació entre el pes corporal i el paràmetre no és garantia d'una bona predicció.

Semivida

La majoria de fàrmacs s'administren a una dosi prèviament determinada i a intervals regulars per tal d'assolir l'objectiu terapèutic desitjat. La semivida del fàrmac en el plasma és un dels factors més importants que es tenen en compte a l'hora de seleccionar una posologia, ja que si es coneix la semivida es pot predir el grau d'acumulació del fàrmac i el temps necessari per a assolir l'estat d'equilibri estacionari (Gibaldi & Perrier, 1982).

El significat fisiològic de la semivida és un punt important a tenir en compte. Segons el procediment matemàtic seguit per al seu càlcul, la K_{el} i el V_d podrien ser considerats paràmetres independents, ja que s'haurien "mesurat" directament dels perfils experimentals, i la Cl seria el paràmetre "calculat". Però això passa només des del punt de vista matemàtic. Fisiològicament, els paràmetres veritablement independents són el volum de distribució i la Cl , mentre que la K_{el} i la $t_{1/2}$ en depenen. És a dir, en la interpretació del significat dels paràmetres farmacocinètics, cal tenir en compte que la semivida d'un fàrmac depèn del volum de distribució i de l'aclariment plasmàtic, no a la inversa, ja que són aquests dos paràmetres els que tenen significat fisiològic. Així, doncs, la relació real d'aquests tres valors serà:

$$t_{1/2} = 0.693 \cdot V_d / Cl$$

Per tant, quan en determinats estats d'alteració fisiològica s'observa un canvi del valor de la $t_{1/2}$ respecte del valor en la situació normal, el que en realitat s'està reflectint és un canvi en la capacitat d'aclariment o en la distribució del fàrmac.

En el cas dels models bicompartimentals, una font de confusió comuna és el fet que es puguin calcular diferents semivides d'eliminació, i cal interpretar el seu significat en funció de la fase a què facin referència. La $t_{1/2}$ reflecteix la fase terminal de l'eliminació i és el paràmetre que, juntament amb el V_d , s'utilitza en l'establiment de pautes posològiques, ja que expliquen la disposició del fàrmac en el règim d'administració concret a partir del qual es calculen. La semivida biològica ($t_{1/2}$) engloba tant la distribució com l'eliminació del fàrmac de manera

general, ja que es calcula a partir del V_{ss} –que és un estimat del V_t – i la Cl. Té, doncs, un sentit més fisiològic.

Cinèticament, la semivida d'un fàrmac és proporcional al seu volum de distribució i inversament proporcional a l'aclariment. Aquesta naturalesa híbrida dóna lloc a lectures diferents. Alguns autors consideren que, a causa d'aquesta característica, la semivida no està directament relacionada amb una funció fisiològica i, per tant, la predicció d'aquest paràmetre a partir de l'escalatge interespecífic és difícil (Lin, 1995; Mahmood, 1998a). Altres autors, en canvi, apunten que és el paràmetre més robust perquè el seu valor es pot mantenir constant encara que hi hagi una elevada variabilitat interespecífica en els valors de Cl i volum de distribució, precisament perquè reflecteix una relació entre ells (Riviere et al., 1997).

En general, quan el fàrmac s'excreta per via renal i presenta una baixa unió a proteïnes, és d'esperar que l'escalatge interespecífic de la semivida presenti una correlació elevada, ja que, aleshores, la Cl i el volum de distribució reflecteixen, aproximadament, la funció renal i l'aigua corporal total, respectivament. Aquest és el cas de fàrmacs com la ceftizoxime (Mordenti, 1985a), els antibiòtics β -lactàmics, la ciprofloxacina i l'interferó (Mahmood, 1998a). En fàrmacs eliminats majoritàriament per metabolisme, la predicció de la semivida a partir de relacions al·lomètriques és menys exacta, com és el cas del tolcapone, lamifiban i eritromicina (Mahmood, 1998a), o bé directament impossible per a l'àcid valproic i l'etosuximida (Mahmood & Balian, 1996a).

De tota manera, quan s'analitzen les relacions al·lomètriques entre semivida i pes corporal hi pot haver sorpreses. Riviere et al. (1997) realitzen un estudi d'anàlisi al·lomètrica interespecífica entre la semivida i el pes corporal amb 44 fàrmacs. A grans trets, s'observa la tendència descrita que, per als fàrmacs eliminats per via renal, la correlació és elevada, i més baixa per als fàrmacs que presenten metabolisme hepàtic. Però hi ha excepcions imprevistes, com ara el diazepam, un fàrmac que és eliminat majoritàriament per via hepàtica, que presenta una capacitat d'unió a proteïnes molt variable entre espècies i, en general, elevada. En aquest cas, doncs, el valor de la Cl depèn de la unió a proteïnes i de la Cl_{int} , i a causa d'això varia molt entre espècies i és difícilment escalable. Sorprenentment, aquestes diferències no repercuteixen en el valor de la semivida, ja que la correlació entre aquest paràmetre i el pes corporal és elevada, probablement a causa d'un major valor de volum de distribució en les espècies amb una unió a proteïnes més baixa que "corregiria" parcialment la diferència dels valors de la Cl. A més, es tracta d'un fàrmac amb un comportament interindividual molt variable. Per tot això, i encara que aquests resultats per al diazepam coincideixen amb estudis anteriors (Boxenbaum, 1982a), no deixa de ser paradoxal que un fàrmac d'aquestes característiques presenti una bona relació al·lomètrica entre espècies.

EQUACIONS AL·LOMÈTRIQUES

La representació gràfica dels valors d'un determinat paràmetre farmacocinètic en diferents espècies enfront del pes corporal de cadascuna permet calcular l'equació bàsica usada en l'escalatge al·lomètric, coneguda amb el nom d'*equació al·lomètrica*, i que és la següent:

$$Y = a W^b$$

on Y és el paràmetre farmacocinètic que volem escalar, W és el pes corporal, a és l'anomenat coeficient al·lomètric, i b l'exponent al·lomètric. Aquesta funció exponencial esdevé lineal després de la transformació logarítmica, de manera que els valors de l'ordenada en l'origen a i el pendent b poden ser calculats per regressió lineal segons l'equació:

$$\log Y = b \log W + \log a$$

Molts fàrmacs presenten una bona correlació en les seves relacions al·lomètriques, encara que els millors ajustos s'obtenen amb fàrmacs que presenten processos d'eliminació fonamentalment de naturalesa física, és a dir, fàrmacs eliminats per via renal, per via hepàtica amb aclariment elevat o metabolitzats mitjançant reaccions que no involucren el sistema MFO, i per als quals el grau d'unió a proteïnes és baix o bé similar en totes les espècies. Quan es treballa amb fàrmacs amb aclariment baix, que s'eliminen mitjançant reaccions MFO, s'han de tenir en compte altres factors a més de la simple relació amb el pes corporal, sobretot quan l'objectiu és fer prediccions en humans a partir de relacions al·lomètriques entre altres espècies.

En aquest sentit, s'han introduït una gran varietat de factors en les equacions al·lomètriques per tal de millorar la correlació i aconseguir prediccions ajustades a la realitat. Amb més o menys fortuna s'han tingut en compte característiques com la unió a proteïnes, el flux biliar i l'activitat enzimàtica (Ward et al., 1999), o el pes del cervell i activitats metabòliques in vitro (Sanwald-Ducray & Dow, 1997). L'ajust més utilitzat, però, ha estat la correcció de les equacions per l'anomenat màxim potencial de vida (MLP), una mesura de l'esperança de vida desenvolupada per Sacher (1959), que utilitza el pes corporal (W) i el pes del cervell (BW) per a construir l'equació següent:

$$MLP = 10.839 \cdot BW^{0.636} \cdot W^{-0.225}$$

Multiplicant el valor de l'aclariment per aquesta expressió, la CI dels fàrmacs amb aclariment baix eliminats pel sistema MFO poden ser escalats en funció del pes corporal segons l'equació:

$$CI \times MLP = a \cdot W^b$$

on a i b són el coeficient al·lomètric i l'exponent al·lomètric, respectivament, de la CI.

S'han descrit equacions d'aquesta mena per a fàrmacs com l'antipirina (Boxenbaum, 1984), la fenitoïna, el clonazepam, el nordiazepam (Boxenbaum & Ronfeld, 1983) i la ketamina (Pedraz et al., 1988). La utilització d'aquest paràmetre, doncs, ha permès obtenir bones correlacions amb fàrmacs que no s'ajustaven a la relació al·lomètrica simple.

Una altra aproximació a l'ajust al·lomètric és l'escalatge, no dels paràmetres farmacocinètics, sinó de les constants de l'equació de disposició en diferents espècies. Swabb i Bonner (1983) prediuen l'equació de disposició de l'aztreonam en humans utilitzant les constants farmacocinètiques estimades a partir del seu escalatge en altres espècies. El resultat fou una excel·lent correlació entre el perfil predit i l'observat. A més, les prediccions del volum de distribució i la CI també s'ajustaven als valors experimentals.

Mordenti (1985) utilitza tres mètodes diferents per a generar les equacions de disposició de la ceftizoxime en humans a partir de l'escalatge interespecífic: el primer mètode consisteix a escalar els coeficients i els exponents de les equacions; el segon escala les microconstants i el volum de distribució, i el tercer escala el volum de distribució i la CI. La conclusió de l'estudi és que independentment del mètode escollit per a obtenir l'equació de disposició, els valors predits a partir d'ella coincideixen amb els valors experimentals.

Mahmood (1999) du a terme un estudi comparatiu entre paràmetres predits per a diferents fàrmacs en l'home a partir de relacions al·lomètriques i els calculats mitjançant l'anàlisi de perfils de disposició elaborats amb les constants interpolades de relacions al·lomètriques interespecífiques. Els resultats indiquen que la predicció de la CI per simple al·lometria no concorda amb els valors reals per a fàrmacs eliminats per metabolisme hepàtic, però que aquesta predicció millora quan s'utilitzen els valors de la CI corregits pel MLP o pel pes del cervell. Tampoc el mètode utilitzat a partir de les constants farmacocinètiques dóna bons resultats per a la CI. En canvi, en el cas de la $t_{1/2}$ i el volum de distribució els valors interpolats per ambdós mètodes són propers als valors reals. L'autor conclou que, en general, quan l'al·lometria simple no funciona, tampoc ho fa l'ajust a partir de les constants.

TEMPS CRONOLÒGIC I TEMPS BIOLÒGIC

Quan s'observen els perfils temps-concentració plasmàtica d'un fàrmac en diferents espècies, el primer que crida l'atenció és que la concentració disminueix més ràpidament en els animals petits que en els grans. Es podria dir, doncs, que els animals petits eliminen els fàrmacs més ràpidament que els animals grans. Això s'explica perquè, de manera general, la grandària dels òrgans disminueix, en termes relatius, quan augmenta la mida de l'animal. De la mateixa manera, els animals petits tenen major nombre de nefrones per gram de teixit renal (Renkin &

Gilmore, 1973) i de citocrom P450 (Stevens et al., 1993; Rodrigues et al., 1994) en relació al seu pes, que els animals grans.

No obstant això, els perfils temps-concentració de diferents espècies poden ser superposats i obtenir un mateix perfil, quan es transformen el temps cronològic i la concentració plasmàtica en un nou sistema de coordenades que no variï entre espècies, prenent com a base de la transformació una propietat fisiològica de l'animal. Quan s'aplica aquesta transformació a la farmacocinètica, s'utilitza l'expressió *temps farmacocinètic*. Mordenti (1985b), en un estudi sobre ceftizoxime, divideix l'equació al·lomètrica de la semivida d'aquest fàrmac (temps cronològic) per l'equació del batec cardíac (temps fisiològic), i obté un valor aproximat de 7300. Això significa que la meitat de la dosi administrada de ceftizoxime s'elimina en 7300 batecs, aproximadament, en totes les espècies, independentment del temps real –cronològic– que empri cadascuna a fer-ho. Quan calcula la semivida en cada espècie tenint en compte aquest factor, aquest paràmetre, que presentava grans diferències entre espècies, esdevé gairebé idèntic per a totes. Aquest valor de 7300 representa una unitat de temps equivalent entre espècies.

Els primers que van utilitzar aquest concepte foren Dedrick et al. (1970), quan van superposar els perfils temps-concentració del metotrexat de cinc espècies animals de la manera següent: van normalitzar les concentracions per la dosi administrada, i transformaren el temps cronològic en temps farmacocinètic dividint-lo per $W^{0.25}$, on W és el pes de l'animal. El valor $W^{0.25}$ va ser escollit de manera empírica, i pot semblar una mesura arbitrària. Van ser Boxenbaum i Ronfeld (1983) els qui van demostrar que el fonament teòric d'aquesta transformació es troba en les relacions al·lomètriques que hi ha entre el volum de distribució i la Cl.

El gràfic semilogarítmic de $C/Dosi/W$ versus $t/W^{0.25}$, tal i com van representar Dedrick et al., va ser anomenat *ajust elemental de Dedrick* per Boxenbaum (1984), i només és aplicable quan el volum de distribució és directament proporcional al pes corporal, ja que s'assumeix que l'exponent de l'equació al·lomètrica d'aquest paràmetre és 1. Boxenbaum i Ronfeld (1983) proposen el nom de *kallynochron* per a la nova unitat de temps definida com a t/W^{1-c} , on c és l'exponent al·lomètric de la Cl. Un kallynochron es defineix com el temps que necessita qualsevol espècie per a depurar de fàrmac el mateix volum de plasma per kilogram de pes corporal. Aquests autors van aplicar l'escalatge amb kallynochrons als perfils de disposició de l'antipirina en diferents espècies, amb la qual cosa van aconseguir la seva superposició.

Quan el volum de distribució no és directament proporcional al pes –l'exponent al·lomètric d'aquest paràmetre és diferent de 1–, amb l'ajust elemental de Dedrick no es poden obtenir perfils superposables i, per tant, s'ha de fer una transformació diferent que tingui en compte el valor d'aquest exponent. En aquest cas, el gràfic semilogarítmic es coneix amb el nom d'*ajust complex de Dedrick*, i s'anomena *apolysichron* a la unitat de temps t/W^{a-c} , on a és l'exponent del volum de distribució. Un apolysichron es defineix com el temps necessari perquè

cadascuna de les espècies elimini la mateixa fracció de fàrmac i depuri el mateix volum de plasma per kilogram de pes corporal. Amb aquesta transformació, Boxenbaum i Ronfeld (1983) aconseguen superposar els perfils de disposició de clordiazepòxid en diferents espècies.

Cap d'aquests ajustos, però, no té en compte el concepte de neotènia, i això pot portar a error quan es volen introduir els humans en els estudis de fàrmacs amb aclariment baix. Per a aquests fàrmacs, es defineixen dues noves unitats de temps farmacocinètic: *dienetichron* (Boxenbaum, 1983) i *syndesichron* (Boxenbaum, 1984). Ambdues són semblants als apolysichrons, però el *dienetichron* incorpora el concepte de MLP, mentre que el *syndesichron* incorpora el pes del cervell. Tot i que el tractament matemàtic d'aquestes expressions ja resulta més complicat que els anteriors, proporcionen una eina excel·lent per a superposar perfils en aquest tipus de fàrmacs (Boxenbaum, 1983; Boxenbaum, 1984).

Aquests estudis van permetre establir l'anomenada *Teoria de la Similitud Farmacocinètica* (Boxenbaum & Ronfeld, 1983), que postula que els processos fisiològics i farmacocinètics estan biològicament relacionats i governats per mecanismes de sincronització. Això significa que quan els processos fisiològics en diferents espècies es mesuren mitjançant temps biològics, aquests processos tenen lloc en temps equivalents. Aquesta equivalència, anomenada *sincronisme entre espècies*, es demostra pel fet que cada mamífer viu aproximadament el mateix nombre de batecs cardíacs o cicles respiratoris (Boxenbaum, 1982b). Per tant, la duració de la vida de l'elefant i del ratolí és aproximadament la mateixa quan es mesura en funció de temps biològic (batecs del cor, per exemple) i, en canvi, és enormement diferent quan es mesura en temps cronològic (anys).

ESCALATGE INTERESPECÍFIC I APLICACIONS DELS ESTUDIS AL·LOMÈTRICS

Les relacions al·lomètriques que s'estableixen entre diferents espècies per a un determinat fàrmac permeten predir la disposició d'aquest fàrmac en altres espècies. A partir de les equacions per als diferents paràmetres o per a les constants farmacocinètiques que proporciona aquesta relació, es pot calcular el valor corresponent en l'espècie d'interès, i així es podrà elaborar l'equació que descriu la disposició del fàrmac en aquella espècie. Una altra manera de fer-ho és definir una equació de la disposició del fàrmac vàlida per a totes les espècies a partir dels perfils temps-concentració de les espècies disponibles, aplicant els tipus d'ajustos en temps farmacocinètics proposats per Dedrick i Boxenbaum (Dedrick et al., 1970; Boxenbaum & Ronfeld, 1983; Boxenbaum, 1983, 1984).

L'investigador disposa d'una relativa llibertat quan s'enfronta a un estudi d'aquesta mena. Es pot escollir el mètode per a generar les equacions que es necessiten, bé a partir de l'escalatge dels paràmetres o de les constants farmacocinètiques. També es pot decidir quins factors correctius es volen introduir en les equacions (MLP, pes del cervell, contingut enzimàtic, pes del fetge, unió a proteïnes, etc.), o si cal utilitzar escales de temps farmacocinètic i de quin

tipus (kallynochron, apolysichron, dienetichron o syndesichron). Fins i tot hi ha llibertat a l'hora d'escollir quins paràmetres farmacocinètics s'escalen i els mètodes mitjançant els quals obtenir els valors d'aquests paràmetres. En paraules de Boxenbaum (1984): "No hi ha ajustos apropiats o inapropiats: les úniques limitacions són aquelles que imposa l'investigador."

L'interès principal dels estudis al·lomètrics en fàrmacs ha estat sempre la possibilitat de predir els paràmetres farmacocinètics en humans a partir de relacions al·lomètriques establertes entre altres espècies. Però també hi ha aplicacions importants en medicina veterinària –i cada vegada se les té més en consideració–, com ara predir paràmetres en espècies que són de difícil manipulació o accés, com les espècies marines o els animals salvatges. Actualment s'està treballant en l'elaboració de bases de dades àmplies que intenten compilar tota la informació disponible sobre la cinètica de fàrmacs, com és el cas de la Food Animal Residue Avoidance Data Bank (FARAD) dels EUA (Riviere et al., 1991; Craigmill et al., 1994; Sundlof et al., 1996), per tal de poder establir relacions al·lomètriques fiables per a tots els fàrmacs disponibles. L'objectiu d'aquests treballs és poder utilitzar aquestes relacions per a predir dosis i pautes posològiques adequades per a un determinat fàrmac en espècies en les quals no ha estat estudiat el perfil cinètic. També pot ser interessant una aplicació d'aquests treballs amb l'objectiu de reduir al mínim necessari el nombre d'estudis experimentals amb animals. Actualment s'està introduint l'ús de la *farmacocinètica de poblacions*, que intenta predir els perfils temps-concentració d'un fàrmac en una espècie a partir de l'estimació de les equacions al·lomètriques de cada paràmetre, utilitzant dades d'un gran nombre d'individus.

Una de les possibles aplicacions de l'al·lometria i l'escalatge interespecífic és l'establiment de pautes posològiques. Mordenti (Mordenti, 1986b), en un estudi amb 5 espècies diferents, estableix les equivalències farmacocinètiques d'una cefalosporina per a cada espècie de la manera següent: selecciona la dosi necessària per a cadascuna per tal d'obtenir un mateix màxim en les concentracions plasmàtiques, així com la pauta de dosificació adequada per a obtenir un valor d'AUC (àrea sota la corba) equivalent. Relacionant la dosi i la pauta de dosificació en funció del pes descriu les equacions al·lomètriques corresponents, que mostren que les espècies més petites requereixen dosis més grans de fàrmac i administrades amb més freqüència. De la mateixa manera es pot pensar en la interpolació de dosis tòxiques.

Un cop més, però, les diferències interespecífiques compliquen aquest tipus d'estudis. La toxicitat de moltes substàncies és simplement una extensió de les seves accions farmacològiques, un tipus de toxicitat específic i que està directament relacionat amb l'afinitat intrínseca dels receptors, així com amb la concentració de fàrmac en la biofase. En el cas de la digitoxina, s'observa una gran diferència en la seva toxicitat entre espècies, diferència relacionada tant amb la variabilitat interespecífica de l'afinitat pel transportador com amb les diferències farmacocinètiques entre espècies (Ings, 1990). En altres fàrmacs, la toxicitat apareix per la presència d'una quantitat alta de fàrmac o metabòlits que tenen un efecte tòxic per a les cèl·lules. Aquest tipus de toxicitat és menys específic i depèn principalment de factors

farmacocinètics, i els anticancerosos en són un bon exemple. Les equacions al·lomètriques que relacionen les dosis tòxiques mínimes de diversos agents antineoplàstics amb la superfície corporal presenten una bona correlació entre espècies (Freireich et al., 1966; Mordenti, 1986b). D'aquestes relacions s'extreu que, en augmentar el pes de l'animal, la dosi necessària perquè es manifestin els efectes tòxics va disminuint progressivament. De totes maneres, com que, per a la majoria d'aquests fàrmacs, les diferències interespecífiques quant a dosis tòxiques són conseqüència de diferències farmacocinètiques, l'AUC ha estat el paràmetre tradicionalment utilitzat com a guia per a l'escalatge de les dosis màximes tolerades per humans, a partir de les LD₁₀ en animals de laboratori (Collins et al., 1986). En un estudi similar, Riviere et al. (1999) utilitzen l'exponent al·lomètric de la semivida determinat per a la gentamicina per a estimar dosis isonefrotòxiques –és a dir, dosis que provoquen el mateix grau de danys renals– entre espècies. Partint d'una dosi nefrotòxica en una espècie coneguda, dedueixen la dosi tòxica en una espècie problema a partir de les relacions entre el seu pes corporal i utilitzant l'exponent al·lomètric mencionat. Els resultats obtinguts són confirmats per la literatura existent. Aquesta mateixa relació es pot utilitzar per a establir dosis terapèutiques.

L'altra aplicació tradicional de l'al·lometria es relaciona amb la selecció de fàrmacs destinats a humans, on els protocols de desenvolupament dels fàrmacs només inclouen estudis cinètics en animals de laboratori. A partir dels resultats obtinguts en animals, doncs, es pretén predir el comportament cinètic en humans de fàrmacs en desenvolupament. Durant aquests últims anys s'han publicat diversos treballs d'aquest tipus. Izumi et al. (1996) realitzen un estudi de predicció de la disposició del troglitazone –un agent antidiabètic– en humans després de l'administració oral, a partir de relacions al·lomètriques en altres espècies, i obtenen perfils i valors d'AUC força semblants als observats directament en humans. Ward et al. (1999) assagen diferents equacions al·lomètriques per tal de predir la disposició d'un nou antagonista del receptor de la vitronectina en humans. Els resultats mostren una bona correlació quan incorporen l'activitat enzimàtica *in vitro* a l'equació al·lomètrica. També obtenen bona predictibilitat en humans els estudis de Richter et al. (1999) per a la farmacocinètica del lenercept, una proteïna d'unió al TNF, i els de Brocks et al. (1999) per a l'antimalàric halofantrine. També hi ha, però, estudis on la predicció en humans no és tan bona, com mostren els treballs de Lavé et al. (1999) amb el napsagatran, un inhibidor de la trombina, o l'estudi sobre la predicció de la biodisponibilitat oral de diferents fàrmacs en humans a partir de l'escalatge d'aquest paràmetre en diverses espècies (Mahmood, 2000).

Com s'ha dit anteriorment, aquesta metodologia s'està aplicant cada vegada més a la medicina veterinària, tot i que, en aquests casos, la gran diversitat d'espècies fa que els factors a tenir en compte siguin nombrosos. Les diferències interespecífiques, i fins i tot les interindividuals, esdevenen una barrera de vegades difícil de superar, que fan dels estudis al·lomètrics una eina limitada. Actualment, existeix certa tendència a efectuar els estudis d'al·lometria utilitzant un gran nombre de dades individuals de diferents espècies (Riviere et al.,

1997), de manera que, d'una banda, es compensa la variabilitat interindividual que afecta els estudis al·lomètrics clàssics i, de l'altra, permet introduir comparacions interespecífiques en els estudis de farmacocinètica de poblacions, que tradicionalment s'han realitzat en una sola espècie. Aquesta mena d'estudis proporcionen una eina útil per a interpolar la disposició plasmàtica –i tissular, fins i tot– entre espècies, tenint en compte la influència de factors clínics intraespecífics i interespecífics. Les anomenades estratègies de modelatge d'efectes mixtes (*mixed-effect modelling*) han resultat útils en l'escalatge interespecífic utilitzant dades preclíniques (Cosson et al., 1995). Estudis recents apliquen amb èxit aquests models a fàrmacs prou coneguts, com ara la gentamicina i l'oxitetraciclina (Martín-Jiménez & Riviere, 2000), a partir de les dades contingudes en la FARAD (Riviere et al., 1991). Un camp on aquests tipus d'estudis poden ser molt útils és el de la determinació de temps d'espera per al sacrifici d'animals tractats amb fàrmacs i que estan destinats a consum humà (Martín-Jiménez & Riviere, 1998).

En definitiva, l'escalatge interespecífic s'està convertint en una disciplina que evoluciona, incorpora noves tècniques per tal de millorar la fiabilitat de les prediccions que se'n puguin fer i, a més, s'està treballant perquè se'n pugui fer un ús específic en medicina veterinària i, alhora, disminuir l'ús d'animals en l'experimentació de fàrmacs. L'objectiu final d'aquest tipus d'estudis és que, en un futur, no sigui necessari desenvolupar un protocol sencer d'utilització d'un fàrmac en una espècie no estudiada, i disposar d'una eina per a predir el comportament del fàrmac en aquell animal de la manera més segura i fiable.

TIAMFENICOL

CARACTERÍSTIQUES FISICOQUÍMIQUES

El compost químic D(+)-treo-1-(4-metilsulfofenil)-2-dicloroacetamida-1,3-propanodiol és un antibiòtic sintètic derivat del cloramfenicol (CAP), sintetitzat per Cutler et al. l'any 1952 (citat a Uesugi et al., 1974). Les primeres referències bibliogràfiques el citen com a dextrosulfenidol (Cutler et al., 1952; McChesney et al., 1960) però aviat es coneixerà amb el nom de tiamfenicol (TAP) (Aoyama & Iguchi, 1969; Gazzaniga et al., 1973; Uesugi et al., 1974).

El CAP presenta un grup nitro en posició *para* de l'anell benzènic, que és substituït per un grup sulfometil en la molècula de TAP (**figura 1**). Si s'analitza la seva estructura molecular, s'observa que conté dos àtoms de carboni asimètrics (en negreta), de manera que pot existir en forma de quatre isòmers òpticament actius, així com en forma de dos compostos racèmics. Mentre que l'isòmer D(+)-treo presenta una àmplia acció antibacteriana i ha estat utilitzat en terapèutica humana, el compost DL-treo racèmic és actiu en un 50% i, en tenir un cost més baix, ha estat molt utilitzat en el sector zootècnic.

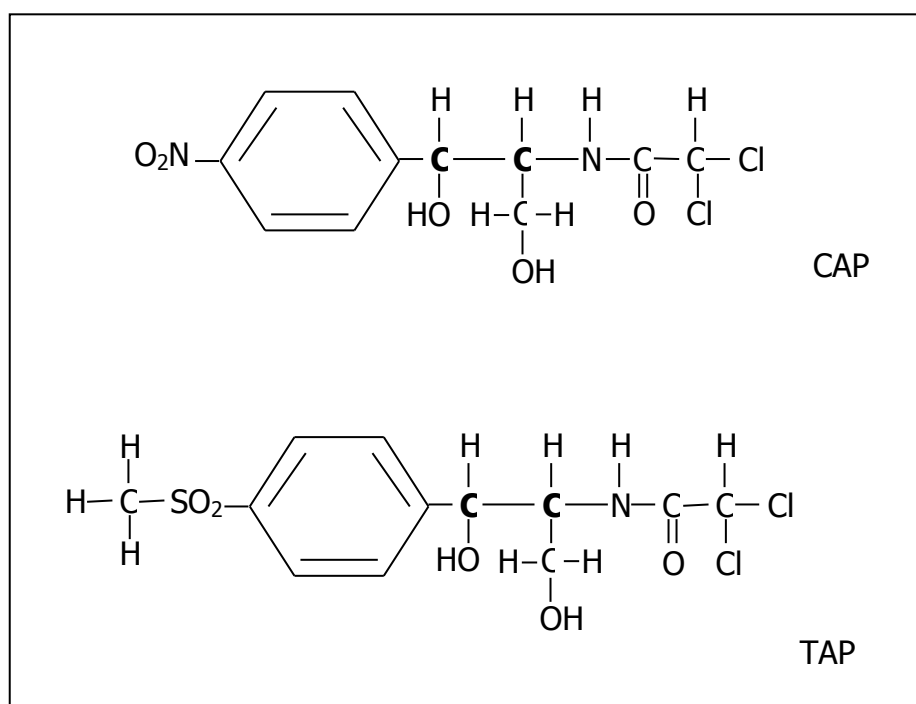


Figura 1. Estructura química del cloramfenicol (CAP) i del tiamfenicol (TAP).

El D(+)-treo TAP es presenta en forma d'una pols cristal·lina, blanquinosa, inodora i de gust amarg. Presenta una baixa solubilitat en aigua (0.5% a temperatura ambient), i és molt soluble en la majoria de solvents orgànics. A causa d'aquesta baixa solubilitat de la substància base en medi aquós, en la pràctica clínica se sol utilitzar en forma de glicinat, tot i que en medicina veterinària també s'utilitza en forma de TAP lliure solubilitzat en solvents orgànics com ara la dimetilacetamida i el glicerol formal.

El seu pKa és de 7.2 i això fa que en condicions fisiològiques estigui poc dissociat. El punt de fusió se situa en 164-166°C, i en solució aquosa presenta màxims d'absorció ultraviolada a 224, 266 i 274 nm (Merck Index, 1983; Martindale, 1993). La seva activitat no està influenciada pel pH, ja que és actiu en un rang de pH de 2 a 9 (Pilloud, 1982).

ESPECTRE D'ACCIÓ

El TAP es pot considerar un antibiòtic d'ampli espectre, amb activitat enfront de bacteris tant grampositius com gramnegatius (**taula 1**). La seva activitat antibacteriana és semblant a la del CAP, però en ambdós casos l'ús massiu ha suposat una disminució d'aquesta activitat. Destaca la gran sensibilitat d'*Haemophilus influenzae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacteroides*, *Neisseria* i *Rickettsia*. Són també habitualment sensibles diferents espècies d'*Staphylococcus* i *Streptococcus*, *Vibrio*, *Shigella*, *Actinomyces*, *Listeria* i *Chlamydia*.

S'ha observat resistència creuada entre el TAP i el CAP, tot i que algunes soques resistents al CAP són susceptibles al TAP (EMEA, 1997). Els bacteris que han desenvolupat una major capacitat de resistència pertanyen a la família de bacils gramnegatius: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* i *Pseudomonas aeruginosa*.

MECANISME D'ACCIÓ I DE RESISTÈNCIA BACTERIANA

Tant el CAP com el TAP es fixen a la subunitat 50 S del ribosoma bacterià 70 S, després de penetrar al citoplasma per difusió facilitada. La unió al ribosoma es realitza de manera que el fàrmac impedeix la fixació de l'aminoacil-tRNA i s'atura la síntesi proteica. Aquesta acció farmacològica té com a conseqüència, en els bacteris sensibles, la inhibició de la seva multiplicació. És, per tant, un antibiòtic bacteriostàtic, però a concentracions molt elevades presenta activitat bactericida (Azanza et al., 1997). Ambdós antibiòtics bloquegen també la síntesi proteica de mitocondris en cèl·lules de mamífers, probablement a causa de la semblança entre els ribosomes mitocondrials i els bacterians, i hi són particularment sensibles les cèl·lules eritropoiètiques (Ferrari & Pajola, 1981).

Taula 1. Activitat del TAP enfront de diferents microorganismes.

Organisme	MIC ₉₀ (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	Rang (µg/ml)	Referència
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	1.56	0.78	0.78-100	(Inamoto et al., 1994a)
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	0.78	0.39	0.1-1.56	(Inamoto et al., 1994b)
<i>Pasteurella multocida</i>	100	0.78	0.025-100	(Inamoto et al., 1994a)
<i>Haemophilus influenzae</i>	25	1.6	0.8-25	(Neu & Fu, 1980)
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1.56	1.56	0.39-1.56	(Yoshimura et al., 2000)
<i>Escherichia coli</i>	200	100	1.6-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Klebsiella</i>	200	3.1	6.3-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Enterobacter</i>	200	100	50-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Proteus mirabilis</i>	200	200	12.5-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Shigella</i>	200	3.1	0.8-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Salmonella</i>	200	50	25-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	200	50-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Bacteroides</i>	25	6.3	3.1-50	(Neu & Fu, 1980)
<i>Staphylococcus aureus</i>	200	25	1.6-200	(Neu & Fu, 1980)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	12.5	6.3	25-50	(Neu & Fu, 1980)
<i>Rickettsia</i>	-	-	0.5-4	(Rolain et al., 1998)

El mecanisme de resistència bacteriana més important és la síntesi, per part del bacteri, d'enzims capaços d'inactivar els fenicols. Es tracta d'acetiltransferases capaces d'acetilar l'antibiòtic, utilitzant com a font l'acetilcoenzim A, i transformar-lo en derivats inactius. El material genètic que codifica aquests enzims és extracromosòmic contingut en plàsmids, constitutius en el cas d'alguns bacils gramnegatius, i induïbles en el cas de cocs grampositius (Quinitiliani JR & Courvalin, 1995). Aquest mecanisme de resistència, ben definit per al CAP, és compartit pel TAP (Ellis et al., 1995). Existeix també resistència cromosòmica en els bacteris gramnegatius, causada per mutacions cromosòmiques que donen com a resultat una disminució de la permeabilitat de la membrana externa bacteriana a l'antibiòtic (Quinitiliani JR & Courvalin, 1995). De totes maneres, hi ha soques resistents al CAP que són sensibles al TAP, i alguns estudis en bacteris propis d'animals aquàtics mostren que quan les soques aïllades són

resistents al TAP rarament són també resistents al CAP o al florfenicol (derivat fluorinat del CAP) (Ho et al., 2000). Les diferències entre el CAP i el TAP quant a resistència bacteriana, doncs, sembla que són degudes a una menor afinitat del TAP per les acetiltransferases bacterianes, afinitat que es calcula al voltant del 50% de la que presenta el CAP (Ferrari & Della Bella, 1974).

PROPIETATS FARMACOCINÈTIQUES

PERFIL CINÈTIC

La disposició del TAP, després de l'administració intravenosa (iv), s'ajusta a equacions biexponencials en totes les espècies estudiades, amb una fase ràpida en la qual predomina la distribució, i una de més lenta en la qual té lloc, principalment, l'eliminació (Gazzaniga et al., 1973; Signorini et al., 1986; Lavy et al., 1991; Mestorino et al., 1993; Abdennebi et al., 1994a,b).

ABSORCIÓ

El TAP és un compost liposoluble, que s'absorbeix amb facilitat quan s'administra per diferents vies extravasals.

Després de l'administració intramuscular (im), el TAP presenta una bona absorció, encara que el temps que triga en assolir les concentracions plasmàtiques màximes (t_{max}) varia en les diferents espècies. En l'home es troben nivells màxims al voltant d'una hora després de l'administració (Tacquet et al., 1974; Ferrari, 1984), aproximadament el mateix que en porcs (Castells et al., 1999). En vedells, aquest t_{max} varia entre 15 i 20 min (Signorini et al., 1986; Abdennebi et al., 1994a) i 1.5 h (Gámez et al., 1992), probablement a causa de les diferents formulacions utilitzades en aquests estudis (els primers administren TAP en forma de glicinat, mentre que Gámez et al. utilitzen una solució de TAP en dimetilacetamida i propilenglicol). En vaques i ovelles, el t_{max} és de 15-30 min (Signorini et al., 1986; Mestorino et al., 1993; Abdennebi et al., 1994b; EMEA, 1998a), mentre que en cabres se situa al voltant de les 3 h (Lavy et al., 1991) i en gossos és d'uns 45 min (Castells et al., 1998). Els valors de biodisponibilitat per aquesta via són elevats en totes les espècies estudiades i oscil·len entre el 74% i el 100%.

En humans, la consecució de la concentració màxima en plasma té lloc al voltant de 2 h després de l'administració oral, amb una biodisponibilitat entre el 75% i el 91% (Ferrari, 1984). En animals remugants, però, l'absorció és moderada. En ovelles, per exemple, s'assoleixen concentracions màximes al cap de 6 h i el valor de la biodisponibilitat és del 30% (Abdennebi et al., 1994b), probablement a causa de l'acció de les estructures digestives ruminals, en les quals el fàrmac queda retingut i on pot ser fins i tot degradat per enzims i microorganismes presents

en el rumen. Tot i això, en aquestes espècies s'han observat nivells plasmàtics detectables de TAP, al contrari del que passa després de l'administració oral de CAP (Davis et al., 1972; De Corte-Baeten & Debackere, 1975; Debacker et al., 1978). L'explicació d'aquest fet podria ser que el CAP és metabolitzat en l'entorn ruminal pels microorganismes presents (De Corte-Baeten & Debackere, 1975) a causa, segons alguns autors, de l'activació del grup nitro, que donaria lloc a metabòlits altament reactius (Abdennebi et al., 1994b). El TAP, en canvi, en no disposar d'aquest grup en la seva molècula, seria retintut i biotransformat en un grau menor. Una altra explicació seria que el CAP fos eliminat de manera significativa per un efecte de primer pas i que aquest efecte fos menor en el cas del TAP (Abdennebi et al., 1994b). En estudis d'administració oral de TAP en porcs (Castells et al., dades no publicades) les concentracions màximes van ser força més baixes que les obtingudes quan el fàrmac s'administrà per via im, amb una biodisponibilitat calculada al voltant del 30%. Aquesta baixa biodisponibilitat podria ser a causa d'un efecte de primer pas; també la formulació assajada podria explicar aquests resultats, tot i que els estudis són encara preliminars. D'altra banda, estudis recents en peixos (Castells et al., 2000) indiquen que l'absorció oral en aquesta espècie és bona i que s'assoleixen concentracions plasmàtiques màximes significatives al cap d'unes 8 h.

L'administració intratraqueal de TAP en vedells presenta una bona absorció, ja que el valor de biodisponibilitat calculat és del 60%, i les concentracions màximes, assolides al cap de 30 min, són significatives (Signorini et al., 1991).

DISTRIBUCIÓ

La distribució del TAP és ràpida, assoleix altes concentracions en molts teixits perifèrics, així com en els fluids corporals, i només una petita fracció s'uneix a proteïnes plasmàtiques (1%-10%) (Kawabe et al., 1966). En rates, gats, gossos i conills les concentracions en la majoria de teixits són similars a les plasmàtiques, excepte per al fetge i el ronyó, on la proporció entre els nivells plasmàtics i els tissulars sol ser superior a 1, probablement a causa de la implicació d'aquests òrgans en l'eliminació (McChesney et al., 1960).

La penetració del TAP en la llet materna, tant després de l'administració iv com im, és elevada en cabres i vaques (Lavy et al., 1991; Mestorino et al., 1993), així com en el líquid amniòtic (Plomp et al., 1976) i el fluid seminal (Plomp et al., 1978) en humans. En ovelles es detecten nivells de TAP en la bilis i en els líquids pericardial, peritoneal i sinovial superiors als corresponents en plasma, així com en el líquid cefaloraquídi però en concentracions més baixes i durant menys temps (EMEA, 1998a).

ELIMINACIÓ

L'eliminació del TAP és ràpida, amb valors de semivida calculats en humans després de l'administració iv, d'entre 35 min (Tacquet et al., 1974) i 2 h (Moskovchenko et al., 1971;

Ferrari, 1984). En vedells trobem valors al voltant de les 2 h (Signorini et al., 1986; Abdennebi et al., 1994a), 1.5 h en ovelles (Abdennebi et al., 1994b) i 1 h en cabres (Lavy et al., 1991). En rates, el valor de semivida s'estima en uns 45 min (Gazzaniga et al., 1973).

El TAP és eliminat, majoritàriament en forma activa, per via renal, mitjançant filtració glomerular, mentre que el CAP només s'elimina en forma activa per aquesta via en un 10% de la dosi (Azanza et al., 1997).

El CAP s'elimina principalment per metabolisme hepàtic, patint una biotransformació microsomal, concretament mitjançant una reacció sintètica de glucuronoconjugació amb la intervenció de l'enzim glucuroniltransferasa. Estudis *in vitro* realitzats en rates mostren que el TAP no és un bon substrat d'aquest enzim, resultats confirmats per estudis *in vivo*, en els quals la semivida del TAP no es veu afectada per la inducció amb fenobarbital ni per la hepatectomia parcial, que sí afecten l'eliminació del CAP (Anònim, 1974). En aquests mateixos estudis s'observa que el TAP presenta una baixa afinitat pel citocrom P450 en comparació amb la del CAP.

El metabolisme del TAP ha estat estudiat per diversos autors, basant-se en les vies metabòliques conegudes del CAP, i se n'ha proposat una possible ruta metabòlica (**figura 2**) (Cattabeni & Gazzaniga, 1974). De manera general, els productes que es troben en orina i bilis són: TAP actiu, productes d'hidròlisi en forma de derivats deacilats, i conjugats glucurònics (Uesugi et al., 1974a; Nakagawa et al., 1975). En totes les espècies estudiades el percentatge de la dosi recuperat en els productes d'excreció és del 70%-98%, però hi ha diferències entre espècies quant a la forma en què es recupera el fàrmac. En l'home només el 4.5% del producte recuperat en orina és excretat en forma de metabòlits, dels quals tan sols aproximadament una quarta part és conjugat glucurònic (Uesugi et al., 1974a), tot i que en altres estudis no es detecta glucuronat en absolut (Nakagawa et al., 1975). En rates i conills, la major part de la dosi és recuperada en orina en forma de TAP actiu, mentre que en cobais el percentatge més alt (24%) apareix en la bilis i en forma de TAP-glucurònic (Uesugi et al., 1974a). En porcs s'observa un nivell de glucuronidació semblant al dels cobais, i aproximadament un 30% de la dosi es metabolitza en forma de glucuronat en cultius d'hepatòcits de porc (EMEA, 1997).

Aquesta baixa capacitat que, en general, presenten les diferents espècies per a formar derivats glucuronats de TAP no es pot relacionar amb la naturalesa dels seus sistemes enzimàtics, ja que la majoria ha demostrat una gran capacitat de glucuronoconjugació d'altres compostos (Uesugi et al., 1974a). La possible explicació es trobaria en les propietats fisicoquímiques del TAP, que condicionarien l'afinitat de l'antibiòtic pels enzims responsables del metabolisme dels fàrmacs.

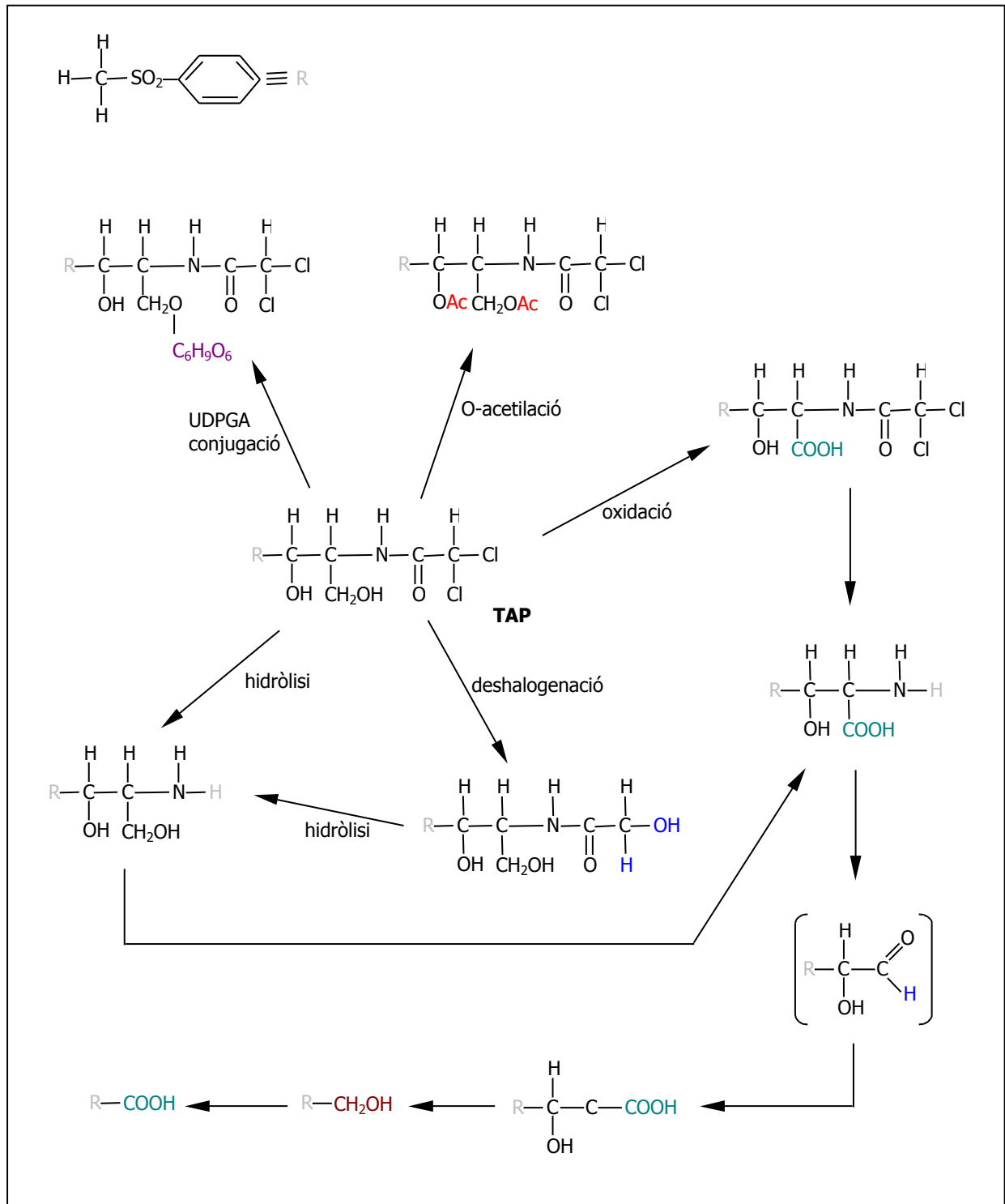


Figura 2. Possibles rutes metabòliques del TAP.

Com han suggerit alguns autors (Abou-el-Makarem et al., 1967; Millburn et al., 1967), el pes molecular i la polaritat d'un compost poden ser factors determinants del seu grau d'excreció biliar, de manera que compostos de baix pes molecular presentarien una pobra excreció biliar, mentre que aquesta seria més activa si el compost fos polar i d'elevat pes

molecular o si es biotransformés en un metabòlit d'aquestes característiques. Però en el cas del TAP i el CAP, en moltes espècies s'ha observat una relació irregular entre el pes molecular i la polaritat i l'excreció biliar (Uesugi et al., 1974a,b) i, de fet, està demostrada l'existència de diferències entre espècies quant a l'excreció biliar de fàrmacs, de manera que les rates, els gossos i les gallines presenten una capacitat elevada d'excreció biliar, mentre que en els conills, els cobais i els micos aquesta capacitat és molt més baixa, i les ovelles i els gats se situarien en un grup intermig (Abou-el-Makarem et al., 1967). Per tant, sembla que les diferències quantitatives en l'excreció biliar i urinària d'aquests fàrmacs en les espècies estudiades no poden ser degudes únicament a la capacitat de conjugació o a les característiques fisicoquímiques dels compostos, sinó que també s'haurien de considerar les diferències interespecífiques en els mecanismes d'excreció.

REACCIONS ADVERSES I TOXICITAT

Tot i les analogies entre els dos antibiòtics, el CAP i el TAP difereixen de forma significativa en la seva toxicitat. Les reaccions adverses més destacables són les hematològiques, entre les quals s'han pogut observar discràsies sanguínies (anèmia aplàsica, agranulocitosi, trombocitopènia) i depressió de qualsevol de les sèries cel·lulars sanguínies. El TAP participa del patró global de toxicitat, encara que els efectes sobre la medul·la òssia són menys greus, ja que no s'associa amb aplàsia medul·lar. Altres efectes associats són: anorèxia, vòmits, diarrees i dolor abdominal. Els estudis disponibles sobre genotoxicitat i carcinogenicitat, efectuats en rates, indiquen que el TAP no és tòxic ni carcinogènic en aquests animals (Ando et al., 1997; EMEA, 1997; Kitamura et al., 1997).

La depressió medul·lar és freqüent, fins i tot constant si la posologia diària és elevada i la duració del tractament prolongada. És, doncs, un efecte dependent de la dosi i reversible quan se suspèn el tractament (Yunis, 1981). El mecanisme que provoca aquesta depressió medul·lar és la inhibició de la síntesi proteica mitocondrial, específicament de l'enzim hemosintetasa, fet que provoca el bloqueig del darrer pas de la síntesi del grup hemo i es produeix la inhibició de l'eritropoesi (Ferrari & Pajola, 1981). Aquest efecte s'ha observat després del tractament amb CAP (Scott et al., 1965; Firkin, 1972) i també amb TAP, tant en humans (Keiser, 1974; Tomoeda & Yamamoto, 1981) com en animals de laboratori (Takamizawa, 1984).

L'aplàsia medul·lar és un efecte poc corrent, independent de la dosi i que es produeix després d'un període de latència que va de 2 setmanes a 6 mesos després de la supressió del tractament, és un efecte irreversible i, amb freqüència, fatal. Se n'ha observat casos després del tractament amb CAP (Meyer et al., 1974; Doona & Walsh, 1995) però no s'ha demostrat que el tractament amb TAP produeixi aquest efecte (Keiser & Buchegger, 1973; Yunis, 1981).

Alguns estudis han demostrat que el CAP inhibeix la síntesi d'ADN in vitro, mentre que el TAP gairebé no hi té cap efecte, ni tan sols a les concentracions més altes assajades (Skolimowski et al., 1983; Yunis, 1984). Aquests autors proposen que el grup *p*-nitro del CAP seria el responsable de la seva capacitat per a provocar aplàsia medul·lar. La hipòtesi presentada per Yunis (1981) és que, com que l'aplàsia es produeix sense relació amb la dosi ni amb la duració del tractament, podria existir una predisposició genètica individual relacionada amb les vies de síntesi de l'ADN. Així, en individus genèticament sensibles, el grup nitro seria reduït a nitroso-CAP, el qual provocaria danys medul·lars irreversibles a l'interaccionar directament amb macromolècules cel·lulars. Sembla, doncs, que el responsable de l'aplàsia observada després del tractament amb CAP és el grup nitro, que en el TAP és substituït per un grup sulfometil, i això explicaria el fet que no s'hagi observat aquest tipus de toxicitat en tractaments amb TAP (Skolimowski et al., 1983).

En definitiva, els diferents estudis sobre la toxicitat del TAP suggereixen que és un antibiòtic menys tòxic que el CAP, i que les reaccions adverses que es poden presentar són reversibles un cop suspès el tractament, consideracions que el fan particularment interessant per a la seva utilització en clínica com a alternativa del CAP.

INDICACIONS TERAPÈUTIQUES

El TAP presenta indicacions similars a les del CAP, gràcies a la similitud de l'espectre d'acció i de l'activitat antibacteriana. De fet, sol ser menys potent que el CAP, encara que presenta una activitat similar contra molts dels microorganismes que produeixen malalties infeccioses habitualment (Neu & Fu, 1980; Syriopoulou et al., 1981).

En medicina humana el CAP s'utilitza per al tractament de la meningitis bacteriana, rickettsiosi, dermopaties infeccioses, infeccions per anaerobis, brucel·losi, infeccions del tracte respiratori, otitis, conjuntivitis infecciosa, septicèmia i abscess cerebral (Vademecum, 1995; CGCOFE, 2000a). En veterinària el CAP ha jugat un paper important en la terapèutica d'espècies d'abast, amb una relació eficàcia-cost difícilment igualable. Tot i així, la comunitat europea s'ha sumat als països d'influència anglosaxona transferint el CAP a l'Annex IV (EMEA, 2000), constituït per fàrmacs per als quals no és possible determinar un nivell segur de residus, la qual cosa ha suposat, en la pràctica, l'eliminació del CAP de l'arsenal terapèutic.

El TAP es considera més segur que el CAP, encara que menys eficaç. En medicina humana, així com en veterinària, les indicacions són principalment processos pneumònics, bronquitis, i infeccions de les vies respiratòries, hepatobiliars i del tracte urogenital (Vademecum 1995; Veterindustria, 1997; CGCOFE, 2000b). Especialment interessant és aquesta darrera indicació, ja que el fet que el TAP s'elimini per l'orina en forma activa constitueix un avantatge per al tractament d'aquest tipus d'infeccions.

Objectius

L'objectiu principal del present estudi fou la recerca d'una eina que permetés la predicció acurada dels paràmetres cinètics del TAP en qualsevol espècie animal, a partir de les relacions al·lomètriques, establertes experimentalment, en set espècies (ratolí, rata, conill, gos, porc, ovella i vedell). Per tal d'aconseguir-ho, es van fixar un seguit d'objectius parcials:

1. Determinar el comportament cinètic del TAP en diferents espècies animals després de l'administració iv d'una dosi única de TAP.
2. Estudiar la relació al·lomètrica entre els principals paràmetres farmacocinètics del TAP (V_d , Cl i $t_{1/2}$) i el pes de les diferents espècies.
3. Estudiar el sistema de coordenades de temps farmacocinètic, independent de l'espècie, que millor defineixi la disposició del TAP en totes les espècies estudiades.
4. Realitzar una predicció dels valors dels paràmetres en cada espècie a partir de les equacions al·lomètriques i de l'ajust en temps farmacocinètic.
5. Comparar l'exactitud de la predicció dels dos mètodes d'escalatge interespecífic i valorar l'adequació de cadascun a la predicció dels paràmetres farmacocinètics del TAP.

Material i mètodes

PRODUCTES QUÍMICS

El producte utilitzat per al tractament dels animals fou una solució de TAP en dimetilacetamida, a diferents concentracions de principi actiu depenent de l'espècie a tractar (7.5%, 10% i 30%). Totes les solucions van ser proporcionades per Laboratori Jaer S.A. (Sant Vicenç dels Horts, Barcelona).

El TAP utilitzat com a patró en la tècnica de determinació fou una pols comercial del fàrmac, d'un 99.9% de puresa (Sigma), i el florfenicol emprat com a patró intern fou proporcionat per Laboratoris Zambon (Milà, Itàlia).

Els productes utilitzats per a l'extracció i determinació del TAP de les mostres foren els següents:

- Acetonitril (Riedel-de Haën, qualitat HPLC)
- Metanol (Riedel-de Haën, qualitat HPLC)
- Acetat d'etil (SDS)
- Fosfat monosòdic anhidre (NaH_2PO_4) (Merck)
- Acetat sòdic anhidre (CH_3COONa) (Merck)
- Àcid ortofosfòric 85% (H_3PO_4) (Riedel-de Haën)

ANIMALS

Els animals utilitzats en l'estudi, tots mascles i sans, foren: quaranta ratolins de la soca OF1 (Pes = 29 ± 1 g), vint rates de la soca OF1 (Pes = 298 ± 24 g), sis conills de raça *New Zealand White* (Pes = 3.8 ± 0.3 kg), sis gossos *Beagle* (Pes = 16.6 ± 3.5 kg), sis porcs *Large White* (Pes = 26.6 ± 4.1 kg), sis ovelles de la raça Manxega (Pes = 66.0 ± 10.0 kg) i sis vedells de raça Frisona (Pes = 75.0 ± 6.4 kg). Tots els animals estaven en edat adulta excepte els vedells, que estaven acabats de deslletar.

Durant l'experiment els animals es van mantenir estabulats en les instal·lacions del Servei de Granges de la Universitat Autònoma de Barcelona i foren alimentats segons la dieta que seguien habitualment, a més d'aigua de beguda *ad libitum*.

Els protocols dissenyats per a cada experiment van ser revisats i aprovats per la Comissió d'Ètica en l'Experimentació Animal i Humana de la Universitat Autònoma de Barcelona.

TRACTAMENT I PRESA DE MOSTRES

Es van tractar 6 animals de cada espècie, dels quals es va fer la presa de mostres de sang, detallada a continuació. En el cas dels ratolins, es van repartir en 10 grups de 4 animals, de manera que cada grup corresponia a un punt de mostreig i, per tant, es disposava de 4 animals per cada punt. Les rates es van repartir en 5 grups de 4 animals, i es prengueren 4 mostres a cada grup, a diferents temps (4 animals per temps). L'administració del TAP es va realitzar injectant un *bolus* iv en la vena auricular en el cas de conills i porcs, en la vena cefàlica en els gossos, i en la vena jugular en ovelles i vedells. Les mostres de sang es van col·lectar, en tots els casos, a partir de la vena contrària a la utilitzada per a l'administració. Per tal d'evitar patiments innecessaris als animals i facilitar la presa de mostres, quan va ser possible se'ls va col·locar una cànula en la vena corresponent mitjançant la qual s'extreien les mostres de sang. En el cas de les rates i els ratolins l'administració es va dur a terme per la vena caudal i la presa de mostres per punció del plexe venós retroorbital (rates) o per punció intracardíaca (ratolins).

La dosi de TAP que es va administrar fou de 30 mg/kg en totes les espècies, excepte en els gossos, als quals es va administrar una dosi de 40 mg/kg.

Es van prendre mostres de sang de cada animal abans de l'administració, que s'utilitzaren com a blancs de referència, i a diferents temps postadministració. Els ratolins i les rates van ser sacrificats per recollir mostres als temps següents: 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 i 480 min. Es van extreure mostres individuals dels conills (5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480 i 720 min), gossos, porcs, ovelles (3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600 i 720 min) i vedells (5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 300, 420, 480 i 600 min).

ANÀLISI DE LES MOSTRES

Les mostres de sang es recolliren en tubs de polietilè que contenien heparina com a anticoagulant i es centrifugaren a 1932 g durant 20 min per obtenir-ne plasma, el qual es va emmagatzemar a -20°C fins al moment de la determinació analítica.

La tècnica d'extracció i determinació de TAP en plasma es va posar a punt i va ser validada seguint les recomanacions de la EMEA (1998b) abans de començar l'anàlisi de les mostres.

MÈTODE D'EXTRACCIÓ

L'extracció del TAP a partir del plasma es va dur a terme mitjançant una tècnica d'extracció líquid-líquid, detallada a continuació.

A cada mostra de plasma (1 ml), en tubs de vidre amb tap de rosca de 10 ml, se li va afegir 1µg de florfenicol (FFN) com a patró intern, i 1 ml d'una solució de fosfat monosòdic

0.1M pH 7.0. A continuació s'afegiren 5 ml d'acetat d'etil i tot el contingut s'agità en un agitador horitzontal durant 20 min, passats els quals es centrifugà a 1932 g durant 15 min. La fase orgànica es va transferir a tubs cònics i es va procedir a assecar-la en un bany a 30°C mitjançant un rotavapor. Aquest extracte sec es va redissoldre en 200 µl de fase mòbil, dels quals 100 µl s'injectaren al cromatògraf per a la separació i la quantificació de la mostra.

MÈTODE DE DETERMINACIÓ

La concentració de TAP en les mostres es va determinar mitjançant una tècnica d'HPLC, basada en la tècnica de determinació del florfenicol de Varma et al. (1986). Es va utilitzar, com a fase estacionària, una columna de fase reversa C₁₈ i, com a fase mòbil, una mescla d'acetonitril i acetat sòdic 0.01M pH 4.3 en una proporció de 20:80, a un flux d'1.2 ml/min. La longitud d'ona ultraviolada de detecció espectrofotomètrica fou de 223 nm.

L'equip d'HPLC utilitzat fou el següent:

- Bomba quaternària *Waters 600E*
- Injector automàtic *Waters 717 Autosampler*
- Columna C₁₈ *Spherisorb* (20 x 0.46 cm, 5 µm de grandària de partícula, *Waters Corporation*, Milford, MA, USA)
- Detector espectrofotomètric UV *Applied Biosystems 785A*
- Interfase *900 Series Interface PE Nelson*
- Programari *TurboChrom Navigator* versió 4.0

El límit de quantificació de la tècnica es va establir en 500 ng/ml.

ANÀLISI FARMACOCINÈTICA

ANÀLISI DELS PERFILS TEMPS-CONCENTRACIÓ

Les corbes de temps versus concentració plasmàtica de TAP de cada animal es van analitzar, de manera individual (excepte en el cas de ratolins i rates, dels quals només es disposava d'una corba per cada espècie), mitjançant un programa iteratiu de regressió no lineal, WinNonlin (Pharsight, 1999), i es van ajustar segons un mètode de models compartimentals. El criteri que es va seguir per discriminar el millor ajust de les dades entre diferents models fou l'anomenat AIC (*Akaike's Information Criterion*), definit mitjançant una equació basada en el mètode dels mínims quadrats (Akaike, 1976). L'equació del model amb un valor d'AIC més baix fou considerada la millor representació de l'ajust de les dades

experimentals (Yamaoka et al., 1978). Seguint aquest criteri, l'equació escollida per a ajustar les corbes fou una biexponencial, de la forma següent:

$$C_p = A \cdot e^{-\lambda_1 t} + B \cdot e^{-\lambda_2 t}$$

que correspon a un model bicompartimental, i on C_p és la concentració plasmàtica al temps t ; A i B són els punts de tall amb l'eix de les ordenades de la fase lenta i de la fase ràpida, respectivament, i λ_1 i λ_2 són les constants de disposició d'aquestes fases.

A partir de l'equació de la corba, es van determinar les constants necessàries per al càlcul posterior dels paràmetres cinètics, mitjançant les fórmules següents:

$$k_{21} = (A \cdot \lambda_1 + B \cdot \lambda_2) / (A + B)$$

$$k_{10} = \lambda_2 / k_{21}$$

$$k_{12} = \lambda_1 + \lambda_2 - k_{21} - k_{10}$$

CÀLCUL DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Els paràmetres farmacocinètics que es van calcular a partir d'aquesta anàlisi, per a cada animal de cadascuna de les espècies i per unitat de pes, foren els següents:

Volum de distribució: Es van calcular dos valors del volum de distribució, segons les fórmules definides per al model bicompartimental: volum en pseudoequilibri de distribució (V) i volum de distribució en l'estat estacionari (V_{ss}).

$$V = k_{10} \cdot V_c / \lambda_2$$

$$V_{ss} = V_c \cdot (k_{12} + k_{21} / k_{21})$$

Aclariment plasmàtic o clearance (Cl): En un model bicompartimental, el càlcul de la Cl és essencialment el mateix que per al model monocompartimental, ja que l'aclariment té lloc des del compartiment central. Si es coneix el valor de V_c , el càlcul de la Cl vindrà definit per la fórmula $Cl = k_{10} \cdot V_c$, on k_{10} és la constant d'eliminació del fàrmac.

Per tal de facilitar la comparació de l'aclariment entre les diferents espècies, es va calcular el valor de la velocitat d'extracció (E), mitjançant la fórmula $E = Cl / Q$, on Q és el flux sanguini cardíac de l'espècie. El valor de Q de cada espècie es va calcular utilitzant l'equació al·lomètrica definida per a aquest paràmetre (Adolph, 1949): $Q = 166 W^{0.79}$

Semivides ($t_{1/2}$): Es van calcular dues semivides: la referent a la distribució, és a dir, la semivida de la fase de disposició ($t_{1/2d}$), i la semivida de la fase de disposició terminal ($t_{1/2t}$), referent a l'eliminació del fàrmac. Les fórmules utilitzades foren les següents:

$$t_{1/2d} = 0.693 /$$

$$t_{1/2t} = 0.693 /$$

Es calculà, a més, la relació $t_{1/2t} / t_{1/2d}$ en cada espècie, que dóna informació sobre la bicompartimentalitat del perfil de disposició, de manera que com més elevada és aquesta relació més marcada és la diferència entre la fase ràpida i la lenta de l'ajust.

ANÀLISI AL·LOMÈTRICA I ESTADÍSTICA

EQUACIONS AL·LOMÈTRIQUES

Els paràmetres farmacocinètics calculats per a cada animal es corregiren multiplicant-los pel pes de cadascun, i es procedí a calcular les equacions al·lomètriques corresponents. Les equacions al·lomètriques per a cada paràmetre (V_{ss} , V , Cl i $t_{1/2}$) es van obtenir calculant una recta de regressió dels valors dels paràmetres respecte de la mitjana del pes de cada espècie, en una escala logarítmica (log-log), de manera que s'obtingué una equació de la forma:

$$Y = a W^b$$

on Y és el paràmetre farmacocinètic que volem escalar, W és el pes corporal, a és el coeficient al·lomètric, i b l'exponent al·lomètric. Es van calcular els coeficients de correlació (r^2) per a cada equació, que s'utilitzaren per a avaluar-ne la bondat.

En aquestes equacions es va interpolar el valor de cada paràmetre per a cada espècie. Per tal d'evitar que el valor del paràmetre de l'espècie que s'interpolava influís en l'equació, es van generar equacions per a cada espècie ometent el valor del paràmetre d'aquella espècie. L'exactitud dels valors interpolats es va expressar en forma d'error mitjà percentual (E.M., %), segons la fórmula següent:

$$E.M. = (E-P) \times 100 / E$$

on E és el valor experimental, i P , el valor predit. Foren considerats acceptables valors d'E.M. inferiors al 30% (Mahmood, 1998b).

AJUSTOS EN COORDENADES DE TEMPS FARMACOCINÈTIC

Els perfils temps-concentració es van normalitzar per tal d'obtenir els diferents temps farmacocinètics, segons descriu Boxenbaum (1984). Les dades de concentració corresponents a cadascuna de les espècies es van corregir per la dosi administrada i , en el cas dels apolysichrons, per l'expressió W^a , on W és la mitjana del pes de l'espècie i a és l'exponent al·lomètric del volum de distribució. La transformació del temps cronològic es va dur a terme de la manera següent:

- **Temps equivalent:** Les dades de temps corresponents a cadascuna de les espècies es van dividir per l'expressió W^b , on b és l'exponent al·lomètric de la semivida.
- **Kallynochrons:** La transformació del temps cronològic de cada espècie en kallynochrons es va fer dividint-lo per W^{1-c} , on c és l'exponent al·lomètric de l'aclariment.
- **Apolysichrons:** Els temps cronològics es van transformar en apolysichrons dividint-los per W^{a-c} , on a és l'exponent al·lomètric del volum de distribució.
- **Dienetichrons:** El càlcul dels dienetichrons es va efectuar dividint els temps cronològics pel valor de MLP (esperança de vida) corresponent a cada espècie, i aquest valor es va dividir per l'expressió W^a . És a dir: $t/(MLP \times W^a)$. El valor de MLP per a cada espècie es va calcular a partir de l'equació al·lomètrica corresponent a aquest paràmetre (Sacher, 1959), essent BW el pes del cervell:

$$MLP = 10.839 \cdot BW^{0.636} \cdot W^{-0.225}$$

Les dades transformades es van introduir en un programa de regressió no-lineal, PK Solutions (Farrier, 1997), que va calcular els valors dels paràmetres de l'equació que donaven el millor ajust a una corba biexponencial, per a cada temps farmacocinètic. La bondat de l'ajust es va avaluar mitjançant el paràmetre SoD, és a dir, la suma dels quadrats de la diferència entre les dades introduïdes i les generades per l'ajust. Les dades de temps farmacocinètic-concentració que van donar un valor menor de la SoD van ser escollides com al millor ajust, i els valors dels paràmetres de l'equació es van utilitzar com a estimacions inicials en l'ajust a un model compartimental. Les dades es van analitzar utilitzant l'equació del model bicompartimental ($C_p = A \cdot e^{-\lambda_1 t} + B \cdot e^{-\lambda_2 t}$) del programa WinNonlin, amb el qual es van obtenir els valors dels paràmetres farmacocinètics corresponents. La bondat de l'ajust es va avaluar mitjançant la suma dels quadrats de la diferència que, igual que en el cas anterior, havia de tenir el valor més baix possible, i l'anomenat *número de condició*, que dóna una idea de l'estabilitat de la solució oferida pel programa, i que ha de ser menor de 10^p , on p és el nombre de paràmetres de l'equació.

Els valors dels paràmetres farmacocinètics obtinguts es van utilitzar per a calcular els valors dels paràmetres farmacocinètics per a cada espècie, mitjançant la seva conversió en unitats de temps i concentració en coordenades de temps cronològic, és a dir, efectuant l'operació inversa de la realitzada per transformar el temps cronològic en temps farmacocinètic. Els valors obtinguts amb aquest càlcul es van comparar amb els valors experimentals i la seva exactitud es va expressar en forma d'error mitjà percentual (E.M.), mitjançant la fórmula que s'ha descrit anteriorment.

Resultats

DISPOSICIÓ DEL TAP EN LES DIFERENTS ESPÈCIES

PERFILS TEMPS-CONCENTRACIÓ PLASMÀTICA

La **taula 2** recull les concentracions plasmàtiques de TAP en cada temps de mostreig i en cadascuna de les espècies, després de l'administració de 30 mg/kg de TAP (40 mg/kg en els gossos) per via iv. Els valors corresponen a la mitjana (\pm D.E., desviació estàndard) de les concentracions en els 6 animals de cada espècie en cadascun dels temps de mostreig, excepte en el cas de ratolins i rates, en els quals la mitjana correspon a les concentracions en cada temps de 4 animals diferents. A l'hora de representar les corbes temps-concentració plasmàtica de TAP en les diferents espècies, aquestes concentracions es corregiren per la dosi administrada per tal d'homogeneïtzar-les, ja que la dosi fou diferent en una de les espècies (**figura 3**).

Taula 2. Concentracions plasmàtiques de TAP ($\mu\text{g/ml}$) als diferents temps de mostreig, després de l'administració, per via iv, d'una dosi de 30 mg/kg (40 mg/kg en els gossos) de TAP.

TEMPS (min)	CONCENTRACIÓ PLASMÀTICA TAP ($\mu\text{g/ml}$)						
	RATOLINS	RATES	CONILLS	GOSSOS	PORCS	OVELLES	VEDELLS
3				117.7 \pm 18.2	168.0 \pm 92.0	117.3 \pm 37.1	
5	26.4 \pm 1.8	39.0 \pm 4.9	64.0 \pm 5.1	106.5 \pm 14.9	85.5 \pm 59.8	81.2 \pm 26.1	54.7 \pm 8.7
10	16.1 \pm 2.0	29.7 \pm 4.9	45.2 \pm 4.3	86.4 \pm 13.8	38.6 \pm 7.4	51.0 \pm 13.2	
15	16.5 \pm 4.3	21.7 \pm 2.0	33.8 \pm 2.1	66.7 \pm 12.4	30.6 \pm 6.6	45.71 \pm 3.7	44.8 \pm 12.2
20				57.8 \pm 11.3	26.6 \pm 10.0	33.3 \pm 8.0	
30	7.3 \pm 2.0	16.4 \pm 3.3	20.3 \pm 2.2	45.2 \pm 2.1	13.8 \pm 2.4	26.9 \pm 7.4	28.2 \pm 9.2
45	5.1 \pm 1.1	9.3 \pm 1.5		35.6 \pm 2.7	10.0 \pm 2.0	21.6 \pm 6.6	
60	2.9 \pm 1.3	8.2 \pm 0.2	11.3 \pm 0.9	30.3 \pm 3.5	8.8 \pm 2.2	17.0 \pm 5.6	22.7 \pm 8.1
90		5.7 \pm 1.8		24.9 \pm 4.9	4.6 \pm 1.1	13.0 \pm 4.1	17.7 \pm 5.1
120	0.5 \pm 0.2	4.2 \pm 0.7	6.2 \pm 0.6	19.3 \pm 3.4	3.3 \pm 0.9	9.8 \pm 3.3	14.8 \pm 4.2
180	0.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2		12.5 \pm 2.5	1.7 \pm 0.6	5.7 \pm 2.5	11.7 \pm 3.8
240		0.6 \pm 0.1	2.6 \pm 0.3	8.5 \pm 1.4	0.8 \pm 0.5	2.6 \pm 1.6	
300		0.3 \pm 0.1					9.0 \pm 2.9
360		0.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.3	4.5 \pm 2.6	0.5 \pm 0.3	1.1 \pm 0.7	
420							4.7 \pm 1.8
480			0.4 \pm 0.1	1.5 \pm 0.6	0.3 \pm 0.3	0.5 \pm 0.3	2.6 \pm 1.3
600			0.2 \pm 0.1	1.1 \pm 0.9	0.1 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	1.6 \pm 1.1
720				0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	

Les concentracions inicials en el primer temps comú a totes les espècies (5 min) foren, en els animals més petits _ratolins, rates i conills_, 26.4 ± 1.8 , 39.0 ± 4.9 i 64.0 ± 5.1 $\mu\text{g/ml}$, respectivament. En gossos, porcs i ovelles s'assoliren concentracions plasmàtiques més elevades: 106 ± 14.9 , 85.5 ± 59.8 i 81.2 ± 26.1 $\mu\text{g/ml}$, respectivament. En vedells, en canvi, la concentració en aquest temps fou només de 54.7 ± 8.7 $\mu\text{g/ml}$. Cal tenir en compte, però, que la dosi administrada en gossos fou de 40 mg/kg, mentre que en la resta d'espècies fou de 30 mg/kg.

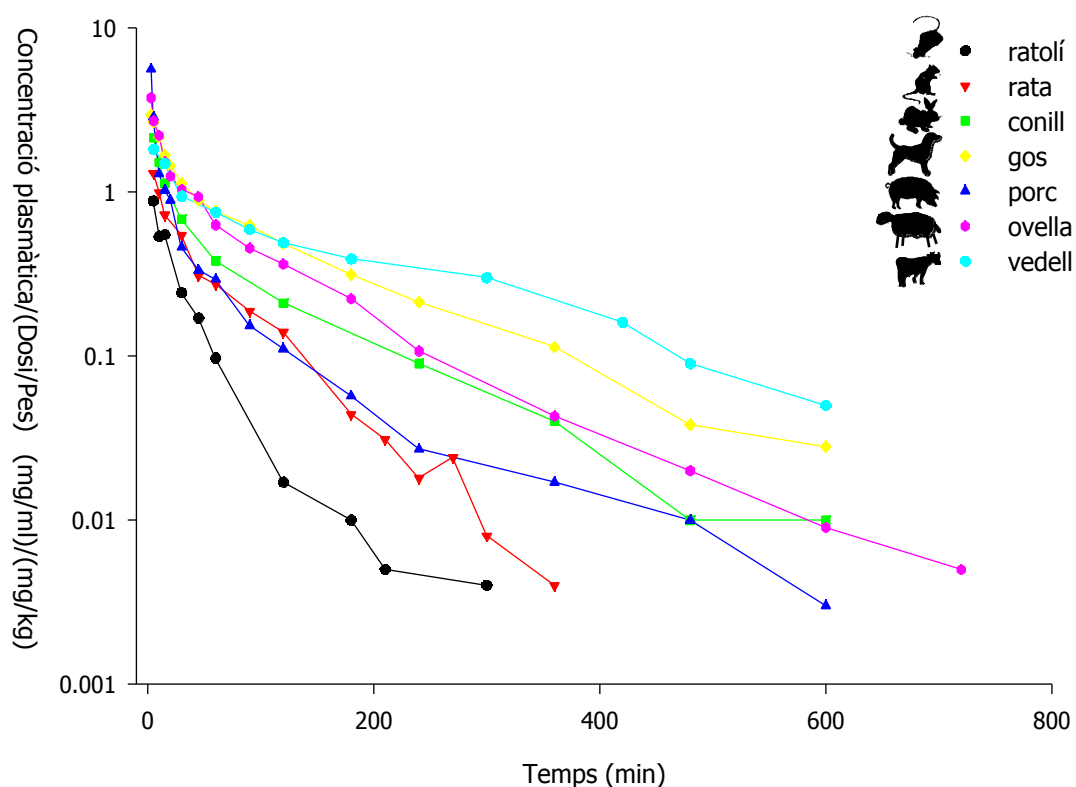


Figura 3. Representació semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques de TAP, corregides per la dosi, en funció del temps, per a cadascuna de les espècies.

El millor ajust de les corbes de concentració plasmàtica de TAP versus temps _l'ajust amb un valor d'AIC més baix_ en tots els animals de totes les espècies, es va aconseguir amb un model bicompartimental, on s'observa una primera fase de disposició ràpida (), que s'identifica amb la distribució com a fenomen majoritari i durant la qual les concentracions plasmàtiques disminueixen ràpidament, seguida d'una fase lenta (), en què predomina l'eliminació i la disminució dels nivells plasmàtics és menys pronunciada. La durada de la fase

varia segons l'espècie i va des de 15 min en ratolins i rates fins a 30-60 min en la resta de les espècies.

PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Els paràmetres farmacocinètics principals resultants de l'anàlisi matemàtica d'aquestes corbes estan recollits en la **taula 3**. Els valors corresponen a les mitjanes (\pm D.E.) dels paràmetres que resultaren de l'anàlisi individual de les corbes de cada animal, excepte en el cas de ratolins i rates, dels quals es disposava d'una sola corba per espècie.

Taula 3. Paràmetres farmacocinètics (mitjana \pm D.E.) en cadascuna de les espècies estudiades, i valors de la velocitat d'extracció (E) i de la relació / en cada espècie.

	RATOLINS	RATES	CONILLS	GOSSOS	PORCS	OVELLES	VEDELLS
V (l/kg)	1.7	1.3	1.5 \pm 0.3	0.8 \pm 0.1	1.1 \pm 0.4	0.8 \pm 0.2	0.9 \pm 0.1
V _{ss} (l/kg)	1.7	1.0	1.0 \pm 0.1	0.7 \pm 0.1	0.6 \pm 0.3	0.7 \pm 0.4	0.8 \pm 0.1
Cl (ml/min·kg)	43.3	17.7	10.0 \pm 0.8	5.3 \pm 0.7	13.4 \pm 4.5	6.8 \pm 1.4	4.4 \pm 0.9
t _d (h)	0.1	0.1	0.2 \pm 0.07	0.2 \pm 0.1	0.05 \pm 0.03	0.2 \pm 0.3	0.2 \pm 0.1
t _e (h)	0.4	0.8	1.8 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	1.2 \pm 0.5	2.1 \pm 1.6	2.4 \pm 0.6
E (Cl/Q)	0.10	0.08	0.07	0.05	0.14	0.08	0.05
Relació /	4	8	9	9	24	11	12

La semivida de distribució (t_d), és a dir, el temps que triga la concentració a disminuir a la meitat en aquesta fase, prengué valors entre 0.05 i 0.2 h, i el valor més baix va correspondre als porcs. La semivida d'eliminació (t_e), en canvi, va presentar valors molt diferents en les diverses espècies, entre 0.4 i 2.4 h, de manera que els animals d'espècies més grans tingueren semivides d'eliminació més llargues. La relació entre la durada de les dues fases (/) dóna idea de la bicompartimentalitat del perfil de disposició, de manera que, com més gran és aquest valor, "més bicompartimental" és el perfil del fàrmac, ja que reflecteix l'existència de dues fases més marcades. Aquesta relació és, en general, més elevada com més gran és el pes de l'animal.

El volum en pseudoequilibri de distribució (V) presentà valors entre 0.8 i 1.7 l/kg, de manera que els V més alts, per unitat de pes, correspongueren a les espècies més petites. Els valors del volum de distribució a l'estat estacionari (V_{ss}), entre 0.6 i 1.7 l/kg, prengueren valors lleugerament inferiors als V.

L'aclariment plasmàtic (Cl) per kilogram de pes també fou més baix en augmentar el pes de l'espècie, amb valors entre 4.4 i 43.3 ml/min·kg. En la **taula 3** també es recullen els valors de la velocitat d'extracció o *extraction ratio* (E), que permeten comparar els valors de Cl

entre les diferents espècies, ja que relacionen el valor d'aquest paràmetre amb el flux sanguini cardíac (Q) de cada espècie. En les espècies estudiades, aquest valor oscil·la entre 0.05 i 0.14.

ESTUDI AL·LÒMETRIC DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

EQUACIONS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Els valors de cada paràmetre farmacocinètic per a cadascuna de les espècies, corregits pel pes de cada animal, es recullen en la **taula 4**. Aquests paràmetres, escalats en funció de la mitjana del pes de l'espècie i a escala logarítmica (log-log), es representen en la **figura 4**. Les equacions al·lòmètriques corresponents, de la forma $Y = a W^b$, calculades per regressió lineal d'aquestes rectes, s'inclouen en cadascuna de les gràfiques. La **taula 5** recull els valors dels coeficients (a) i els exponents (b) al·lòmètrics, així com els coeficients de correlació (r^2), corresponents a les equacions de cada paràmetre.

Taula 4. Paràmetres farmacocinètics, corregits pel pes de cada animal, en cadascuna de les espècies.

	RATOLINS	RATES	CONILLS	GOSSOS	PORCS	OVELLES	VEDELLS
V (l)	0.05	0.4	5.6 ± 1.2	1.3 ± 0.1	29.5 ± 10.2	54.8 ± 11.2	69.8 ± 4.5
V _{ss} (l)	0.05	0.3	3.8 ± 0.4	11.0 ± 0.8	16.5 ± 6.4	46.2 ± 19.8	63.0 ± 4.5
Cl (ml/min)	1.3	5.3	38.0 ± 2.8	88.0 ± 11.6	356.4 ± 119.7	448.8 ± 92.4	326.8 ± 63.0
t _{1/2} (h)	0.4	0.8	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.2 ± 0.5	2.1 ± 1.6	2.4 ± 0.6

Taula 5. Paràmetres de la recta de regressió corresponent a l'escalatge dels paràmetres farmacocinètics en funció de la mitjana del pes de cada espècie.

	Coefficient al·lòmetric (a)	Exponent al·lòmetric (b)	Coefficient de correlació (r ²)
V	0.11	0.92	0.996
V _{ss}	-0.01	0.92	0.997
Cl	1.20	0.76	0.976
t _{1/2}	-0.03	0.20	0.852

En tots els paràmetres representats, els valors augmenten quan augmenta el pes de l'espècie, tal i com indica el valor positiu de l'exponent al·lòmetric, que correspon al pendent de la recta de regressió. Els coeficients de correlació més propers a 1, indicatius de la bondat de la

regressió, són els que presenten la CI, el V i el V_{ss} , amb valors superiors a 0.95. El valor més baix correspon a la t_* ($r^2 = 0.852$).

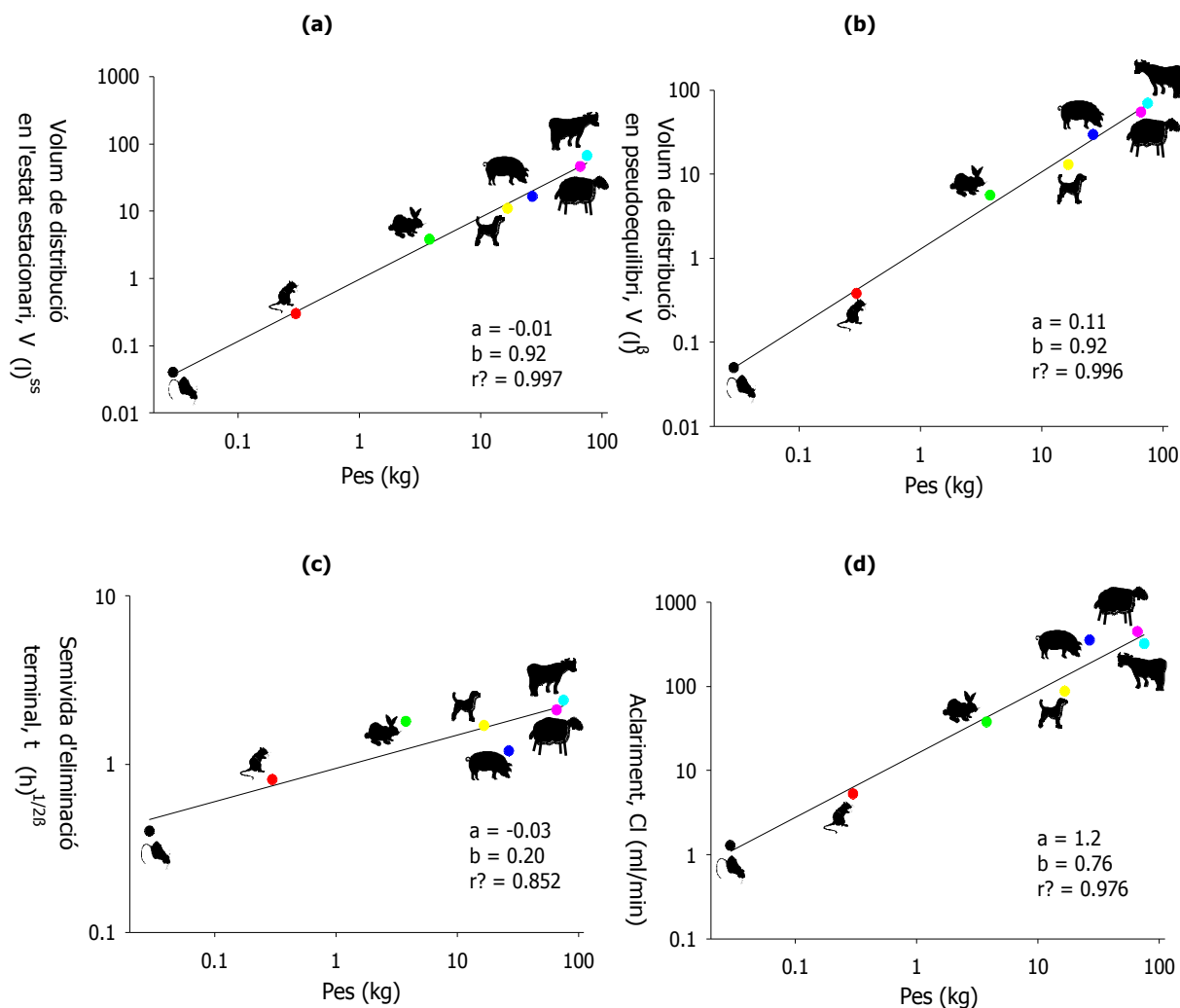


Figura 4. Representació logarítmica de V_{ss} (a), V (b), t_* (c) i CI (d), respecte del pes, de les 7 espècies estudiades.

VALORS PREDITS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Les **taules 6, 7 i 8** recullen els valors experimentals dels paràmetres farmacocinètics escalats i els valors predits a partir de les equacions al·lomètriques corresponents, així com l'error mitjà, el qual reflecteix l'exactitud de la predicció respecte del valor experimental considerat el valor real.

Taula 6. Valors experimentals i valors predits a partir de l'equació al·lomètrica, de cada espècie, del volum en pseudoequilibri de distribució (V) i del volum de distribució en equilibri estacionari (V_{ss}). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	V (l)			V_{ss} (l)		
	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	0.05	0.05	-2	0.04	0.03	27
RATES	0.4	0.4	-16	0.3	0.3	-11
CONILLS	5.6	4.2	26	3.8	3.3	15
GOSSOS	13.0	17.7	-36	11.0	13.3	-21
PORCS	29.5	25.1	15	16.5	20.7	-26
OVELLES	54.8	61.4	-12	46.2	45.3	2
VEDELLS	69.8	65.8	6	63.0	47.2	25

Els valors interpolats del V_{ss} foren similars als observats, amb errors inferiors al 30%, així com els del V , on només els gossos presenten un error superior (36%).

Taula 7. Valors experimentals i valors predits a partir de l'equació al·lomètrica, de cada espècie, de la semivida beta ($t_{1/2}$, h). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	0.4	0.6	-53
RATES	0.8	0.7	12
CONILLS	1.8	1.2	36
GOSSOS	1.7	1.6	4
PORCS	1.2	2.0	-66
OVELLES	2.1	2.2	-4
VEDELLS	2.4	2.1	11

Taula 8. Valors experimentals i valors predits a partir de l'equació al·lomètrica, de cada espècie, de l'aclariment (Cl, ml/min). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	1.3	0.8	41
RATES	5.3	6.8	-29
CONILLS	38.0	44.6	-17
GOSSOS	88.0	145.0	-65
PORCS	356.4	163.1	54
OVELLES	448.8	355.3	21
VEDELLS	326.8	459.0	-41

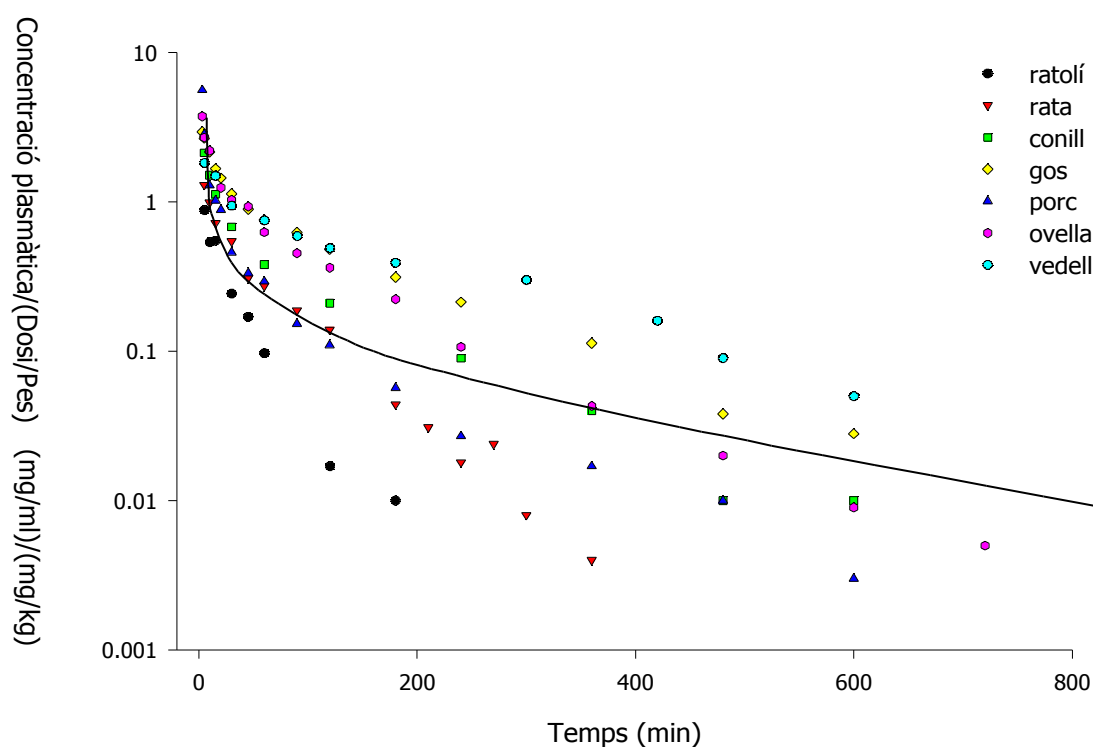
La predicció de la $t_{1/2}$ fou menys acurada, amb errors per sobre del 30% en els ratolins, els conills i els porcs (53%, 36% i 66%, respectivament). Els valors predits de la $t_{1/2}$ foren més baixos que els experimentals en els conills i més alts en les altres dues espècies. Els valors d'E.M. més alts en la interpolació de la Cl corresponen als gossos i als porcs (65% i 54%, respectivament), amb valors predits més alts que els observats en el cas dels gossos i inferiors

en el cas dels porcs. Per a aquest paràmetre també presenten E.M. superiors al 30% les espècies dels extrems de la recta (40%), amb valors predits més baixos en els ratolins i més alts en els vedells.

DISPOSICIÓ DEL TAP EN DIFERENTS COORDENADES DE TEMPS

TEMPS CRONOLÒGIC I TEMPS FARMACOCINÈTICS

La **figura 5** mostra les concentracions plasmàtiques corregides per la dosi, transformades en logaritmes i escalades en funció del temps cronològic, és a dir, el perfil temps-concentració que usualment s'utilitza per a estudiar la cinètica d'un fàrmac. La millor estimació d'una corba comuna a totes les espècies apareix delineada sobre els punts experimentals, i de manera intuïtiva ja es pot observar que no s'ajusta perfectament. La dificultat d'ajustar la corba a les dades es produeix a causa de la gran dispersió dels punts experimentals entre les diferents espècies, sobretot en la fase de disposició lenta, és a dir, en els punts que corresponen majoritàriament a l'eliminació.



Les dades temps-concentració, transformades en temps farmacocinètics segons s'ha descrit a Material i Mètodes, es representen en les **figures 6, 7, 8 i 9**, en gràfiques semilogarítmiques, i corresponen al temps equivalent, als kallynochrons, als apolysichrons i als dienetichrons, respectivament. Com en el cas del temps cronològic, el millor ajust es presenta en forma d'una corba contínua que passa entre els punts experimentals.

La **taula 9** mostra els valors dels paràmetres de l'equació del model bicompartimental que s'utilitzà per a ajustar les dades en cadascuna de les coordenades, així com el valor de la SoD de cada ajust. En el cas dels temps farmacocinètics, es pot observar que la dispersió dels punts experimentals és menor que en el temps cronològic, fet que es reflecteix en valors de SoD més petits. La SoD més baixa correspon a l'ajust en coordenades d'apolysichrons (**figura 7**), que és el que té en compte que el valor de l'exponent al·lomètric del volum de distribució és diferent d'1.

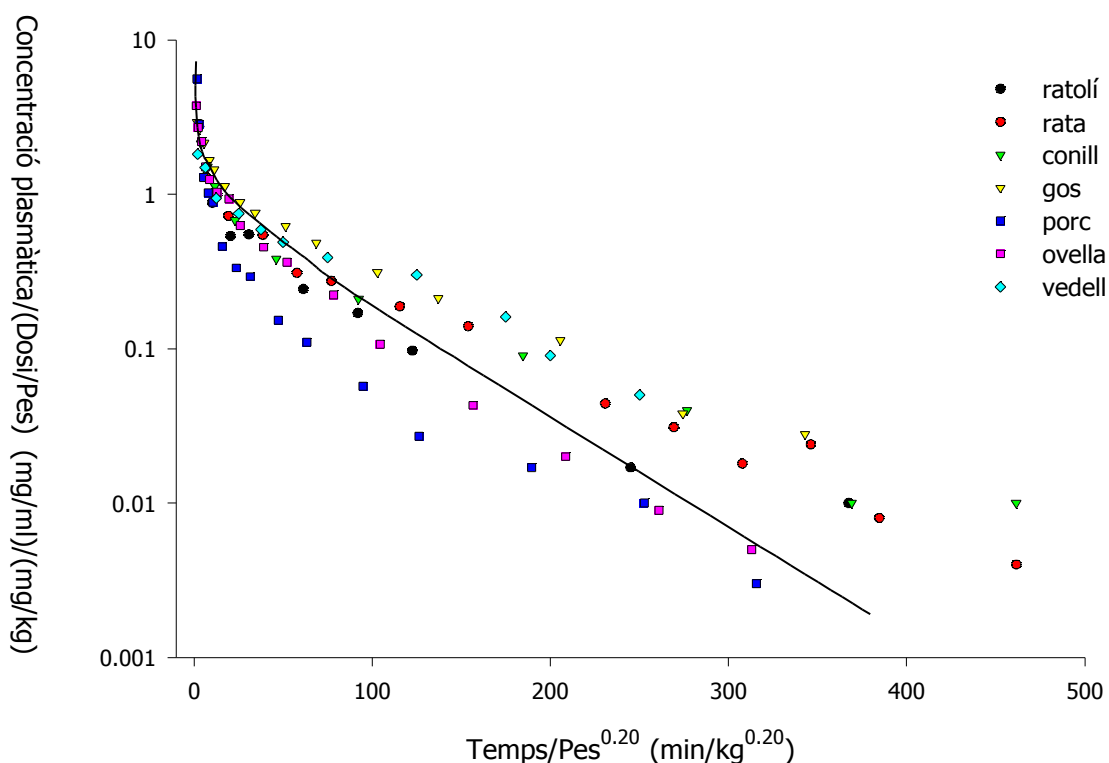


Figura 6. Representació semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques de TAP, corregides per la dosi, en funció del temps equivalent, per a cadascuna de les espècies. El millor ajust d'aquestes dades apareix delineada entre els punts experimentals (—).

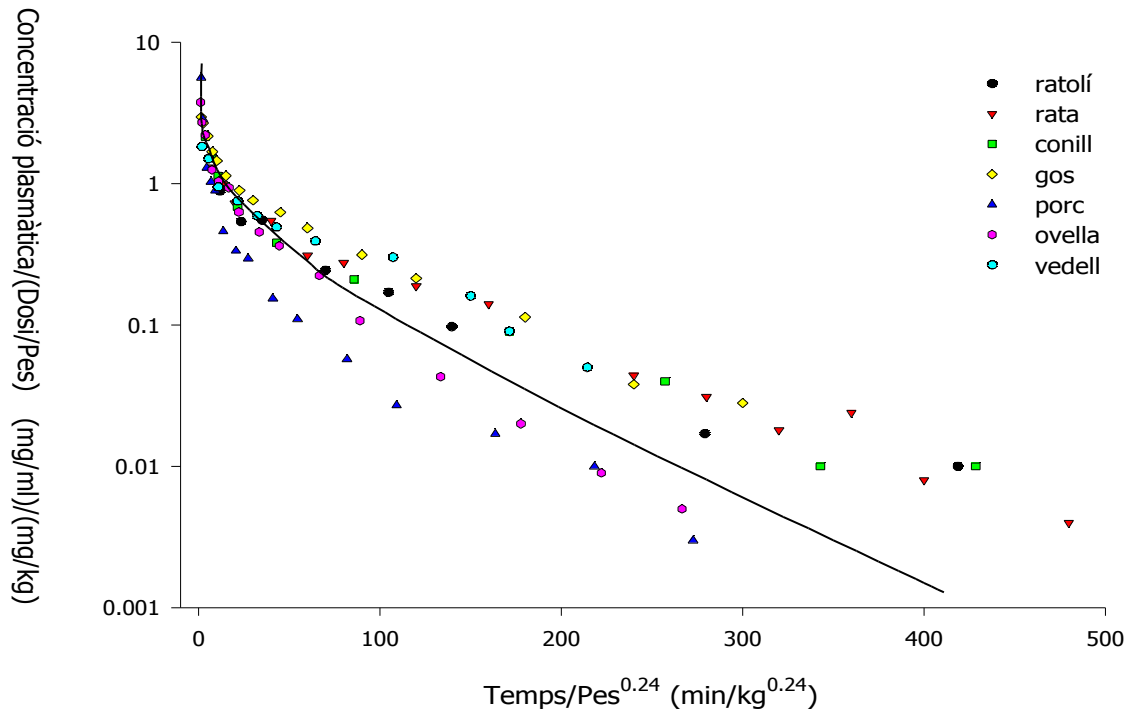


Figura 7. Representació semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques de TAP, corregides per la dosi, en funció dels kallynochrons, per a cadascuna de les espècies. El millor ajust d'aquestes dades apareix delineada entre els punts experimentals (—).

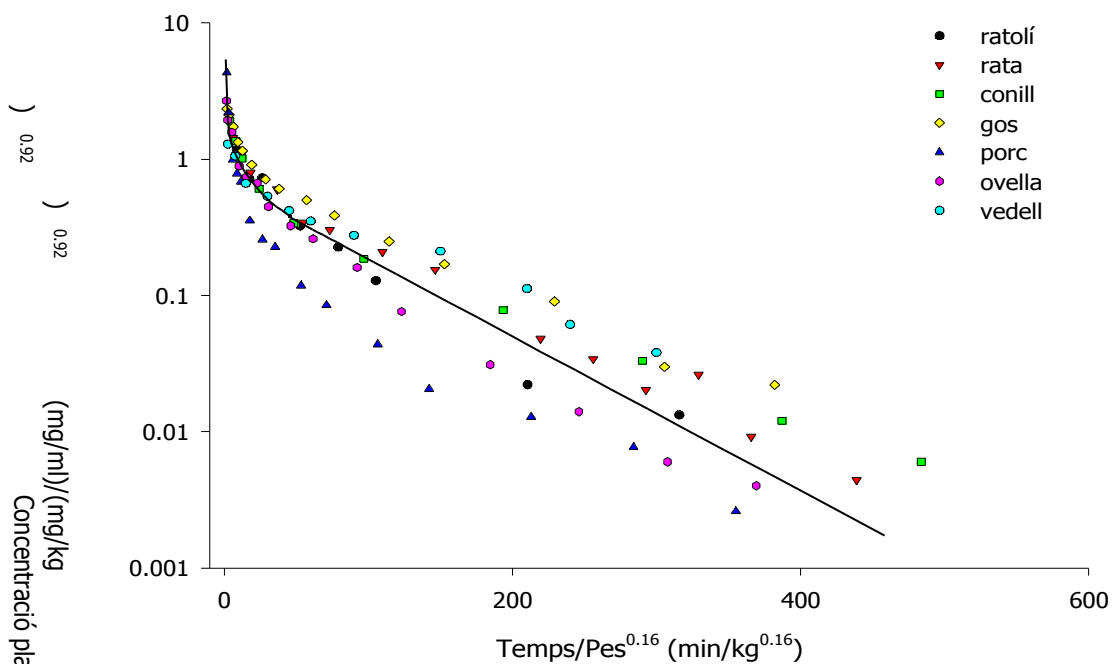


Figura 8. Representació semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques de TAP, corregides per la dosi per

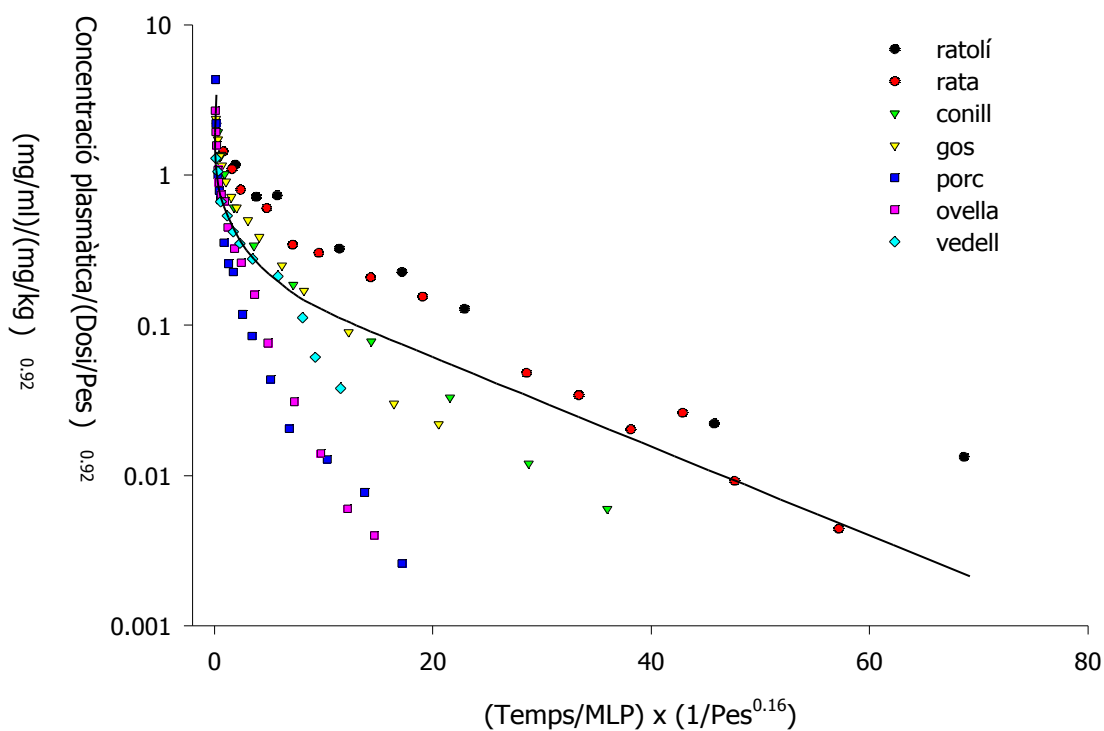


Figura 9. Representació semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques de TAP, corregides per la dosi per unitat de pes elevat a 0.92, en funció dels dienetichrons, per a cadascuna de les espècies. El millor ajust d'aquestes dades apareix delineada entre els punts experimentals (—).

Taula 9. Paràmetres de l'equació del model bicompartimental en cadascun dels ajustos, amb el valor de SoD corresponent.

	A	B			SoD
Temps cronològic	3.2	0.8	0.16	0.02	17.7
Temps equivalent	3.3	0.8	0.23	0.02	9.4
Kallynochrons	3.3	0.7	0.28	0.03	9.6
Apolysichrons	2.5	0.6	0.24	0.03	5.7
Dienetichrons	3.7	0.1	2.1	0.04	10.4

L'equació determinada mitjançant els apolysichrons, doncs, va ser considerada la que millor descrivia les dades de totes les espècies alhora, i per tant va ser l'escollida per a dur a terme l'ajust a un model bicompartimental i calcular els paràmetres farmacocinètics

corresponents. El valor de la suma dels quadrats de la diferència corresponent a aquest ajust fou 6.4, que indica que l'ajust del model als punts experimentals fou acurat, i el número de condició prengué un valor de 261, menor de 10^4 (10^p), de manera que es considerà que el model presentava una estabilitat acceptable.

VALORS PREDITS DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Les expressions dels paràmetres farmacocinètics calculats a partir de l'ajust dels apolysichrons es van utilitzar per a calcular el valor predit del paràmetre en cada espècie, els quals es van comparar amb els valors experimentals. Els resultats d'aquest càlcul, juntament amb els valors dels E.M. corresponents, es recullen en les **taules 10, 11 i 12**.

Taula 10. Valors experimentals i valors predits a partir de l'ajust dels apolysichrons, de cada espècie, del volum en pseudoequilibri de distribució (V) i del volum de distribució en equilibri estacionari (V_{ss}). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	V (l)			V_{ss} (l)		
	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	0.05	0.04	13	0.04	0.03	23
RATES	0.4	0.4	6	0.3	0.3	4
CONILLS	5.6	3.7	33	3.8	3.0	22
GOSSOS	13.0	14.5	-11	11.0	11.6	-6
PORCS	29.5	22.4	24	16.5	17.8	-8
OVELLES	54.8	51.6	6	46.2	41.2	11
VEDELLS	69.8	58.0	17	63.0	46.3	27

Taula 11. Valors experimentals i valors predits a partir de l'ajust dels apolysichrons, de cada espècie, de la semivida beta ($t_{1/2}$, h). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	0.4	0.4	-0.1
RATES	0.8	0.6	28
CONILLS	1.8	0.9	51
GOSSOS	1.7	1.1	35
PORCS	1.2	1.2	0.6
OVELLES	2.1	1.4	34
VEDELLS	2.4	1.4	41

Taula 12. Valors experimentals i valors predits a partir de l'ajust dels apolysichrons, de cada espècie, de l'aclariment (Cl, ml/min). La tercera columna de cada taula recull el valor de l'E.M. (%)

	Valor experimental	Valor predit	E.M. (%)
RATOLINS	1.3	1.2	6
RATES	5.3	7.1	-34
CONILLS	38.0	49.4	-30
GOSSOS	88.0	151.4	-72
PORCS	356.4	216.6	39
OVELLES	448.8	432.1	4
VEDELLS	326.8	476.2	-46

Els valors d'E.M. calculats són superiors al 30% per a la $t_{1/2}$ en quatre espècies (conills, gossos, ovelles i vedells) i en cinc per a la Cl_{rate} , conills, gossos, porcs i vedells, mentre que per al V només supera aquest valor en els conills i en el V_{SS} l'error és inferior al 30% en totes les espècies.

Discussió

Les relacions al·lomètriques que s'estableixen entre els paràmetres farmacocinètics d'un determinat fàrmac en diferents espècies permeten predir-ne la disposició en espècies en què no ha estat estudiada. Els estudis al·lomètrics aplicats a la farmacocinètica que es troben en la bibliografia parteixen de diferents enfocaments per a arribar al mateix resultat: (1) a partir de les equacions que relacionen els diferents paràmetres cinètics d'un fàrmac amb el pes s'interpolen directament el valor corresponent del paràmetre en l'espècie d'interès, o bé s'interpolen els valors de les diferents constants cinètiques i es construeix una equació que descriu la disposició del fàrmac en l'espècie problema, a partir de la qual es calculen els paràmetres farmacocinètics, (2) a partir d'una equació de la disposició del fàrmac vàlida per a totes les espècies, definida a partir dels perfils temps-concentració de cadascuna de les espècies disponibles i aplicant els tipus d'ajustos proposats per Dedrick i Boxenbaum (Dedrick et al., 1970; Boxenbaum, 1983; Boxenbaum & Ronfeld, 1983; Boxenbaum, 1984), es prediuen els valors dels paràmetres farmacocinètics.

Tenint en compte aquests enfocaments, i per tal d'estudiar la idoneïtat dels dos mètodes esmentats, es va proposar l'estudi de la cinètica del TAP en diferents espècies i l'establiment de les relacions al·lomètriques entre els paràmetres farmacocinètics i el pes, així com l'estudi comparatiu entre la interpolació a partir de les relacions al·lomètriques i la predicció utilitzant els ajustos dels perfils temps-concentració en coordenades de temps farmacocinètics.

DISPOSICIÓ DEL TAP EN LES DIFERENTS ESPÈCIES

La correcta interpretació dels paràmetres farmacocinètics té una gran importància a l'hora d'utilitzar-los per a definir la disposició del fàrmac i la seva aplicació clínica. El nombre de paràmetres diferents que es poden calcular, sobretot quan s'apliquen models multicompartimentals, fa que s'hagi de posar cura quan s'interpreta el seu significat fisiològic, a fi que se'n faci una utilització adequada en cada cas. Quan es pretén establir comparacions entre el comportament cinètic del fàrmac en diferents espècies també s'ha de tenir en compte que el mètode de treball emprat hauria de ser el mateix en totes elles, tant pel que fa al disseny de l'experiment (via d'administració, dosi, formulació, presa de mostres, etc.) com a la tècnica analítica utilitzada per a la determinació del fàrmac en les mostres i l'anàlisi dels resultats (càlcul dels paràmetres, anàlisi estadística, etc.). Si aquesta homogeneïtat no és possible, cal tenir-ho present quan s'interpreten els resultats obtinguts.

Hi ha un gran nombre d'estudis que debaten la idoneïtat d'escalar determinats paràmetres farmacocinètics enfront d'altres. La major part d'aquests treballs parteixen de dades recopilades de la bibliografia (Mahmood, 1998a,b) o bé de bases de dades com l'esmentada FARAD (Riviere et al., 1997). En aquest sentit, els avantatges del present estudi són, d'una banda, la procedència de les dades –obtingudes a partir d'estudis realitzats en un mateix laboratori i en condicions similars– i, de l'altra, l'anàlisi de les mostres i dels resultats, que es va

dur a terme mitjançant un mètode prèviament validat pel mateix laboratori i que va ser el mateix en tots els casos. Així doncs, en el present treball es pot descartar la variabilitat originada per factors com ara la formulació assajada, el disseny experimental i el mètode de determinació i anàlisi, que són influències sovint esmentades com a possible causa de fallida d'aquest tipus d'estudis.

El perfil bicompartimental del TAP, observat en totes les espècies estudiades després de considerar el millor ajust estadístic de les dades experimentals, es caracteritza per una fase de disposició ràpida (fase I) i una de lenta (fase II), amb una ràtio I/II que oscil·la entre 4 en els ratolins i 12 en els vedells, valors que reforcen el caràcter bicompartimental dels perfils. Aquesta relació entre les dues fases de la disposició és una manera d'avaluar la bicompartimentalitat del fàrmac, ja que, com més diferent sigui la seva durada, més marcades seran les fases. Aquest tipus de perfil també s'observà en altres espècies, com mostren diversos estudis publicats i que fan referència a rates (Gazzaniga et al., 1973), vedells (Signorini et al., 1986; Abdennebi et al., 1994a), ovelles (Abdennebi et al., 1994b) i cabres (Lavy et al., 1991).

Per tal de poder fer comparacions entre les diferents espècies, les concentracions obtingudes en cadascuna es van dividir per la dosi administrada, ja que la dosi que es va administrar als gossos fou diferent que en la resta d'espècies. Un cop realitzada aquesta correcció, les concentracions inicials foren variables entre les diferents espècies, entre 0.9 µg/ml en els ratolins i 2.9 µg/ml en els porcs. En el cas de les ovelles i els vedells, que són les úniques espècies de les quals es troben referències d'aquesta dada (Abdennebi et al., 1994a,b), les concentracions inicials obtingudes després de l'administració iv de TAP foren similars a les que recull Abdennebi.

La durada de la fase I varia en les diferents espècies, de manera que en les més petites, com ratolins i rates, la durada és menor (15 min) que en la resta (30-60 min). Això es reflecteix en els valors de la $t_{1/2}$, que en ratolins i rates és de 0.1 h, mentre que en les espècies grans és el doble. Aquesta diferència es pot explicar pel fet que, en les espècies petites, el conjunt de processos fisiològics és més ràpid (Lin, 1995) i, per tant, la disposició del fàrmac en aquests animals és globalment més ràpida que en les espècies grans. Per exemple, el temps de circulació sanguínia és de 15 segons en la rata, mentre que en l'home és de 50 segons (Stahl, 1967); això significa que una molècula de fàrmac circularia per l'organisme 4 vegades en un minut en la rata i només 1 vegada per minut en el cas de l'home. El ritme de circulació sanguínia tindrà una relació directa amb la velocitat de distribució del fàrmac i, per tant, amb el temps que invertirà aquest fàrmac en assolir els teixits perifèrics. Així, doncs, en les espècies petites, el ritme de circulació sanguínia elevat permetria l'assoliment de l'estat estacionari de distribució més ràpidament que en les espècies grans, i això donaria valors de $t_{1/2}$ menors en les espècies petites.

En un model bicompartimental, com és el del TAP, es poden calcular el volum de distribució en el compartiment central (V_c), el volum de distribució en l'estat estacionari (V_{ss}) i el

volum en pseudoequilibri de distribució (V). Cadascun d'aquests valors té una utilitat concreta en funció del que es pretén avaluar a través d'aquesta dada. En el present estudi s'analitzen el V_{ss} , que és independent de qualsevol procés d'eliminació, i el volum en pseudoequilibri de distribució (V), que és el que normalment s'utilitza en l'elaboració de pautes posològiques.

Els valors de V_{ss} calculats per a les ovelles i els vedells coincideixen amb els recollits per Abdennebi et al. (1994a,b) (0.8 l/kg i 0.7 l/kg, respectivament), i suggereixen que la distribució del fàrmac és àmplia i assoleix fàcilment els teixits ben irrigats. Els valors de V_{ss} i V són força semblants en les diferents espècies –sobretot en les espècies grans–, al voltant d' 1 l/kg, fet que suggereix que el TAP es distribueix en l'aigua extracel·lular i que no presenta una retenció important per part d'estructures macromoleculares. De fet, la bibliografia descriu una baixa unió del TAP a proteïnes plasmàtiques (Kawabe et al., 1966) i, per tant, s'assumiria que hi ha una equivalència aproximada entre el volum de distribució i el volum d'aigua corporal. Les espècies petites, però, són les que presenten valors de V_{ss} i V lleugerament més grans; com que el volum d'aigua corporal està relacionat amb el pes de l'animal (Chappell & Mordenti, 1991) de manera que els animals petits tenen, en relació al seu pes, un volum d'aigua més elevat que les espècies grans, no és estrany que els volums de distribució siguin més elevats en les espècies petites.

Els valors de la Cl són més elevats com més petit és l'animal, i això reflecteix una major capacitat de depuració, per kilogram de pes, per part de les espècies petites. Aquest fet concorda amb la teoria exposada per Boxenbaum (1982b), que postula que, en general, els animals més petits eliminen els fàrmacs més ràpidament, per unitat de pes, que els grans. La Cl és un paràmetre difícil d'interpretar des del punt de vista fisiològic, ja que té dimensions de flux, de manera que no és immediat discernir si un determinat valor de Cl és elevat o baix. Una possible solució consisteix a relacionar la Cl amb un flux fisiològic, com per exemple el flux sanguini cardíac –que reflecteix el flux de sang que arriba a fetge i ronyons, els òrgans essencialment eliminadors–, relació que, en definitiva, dóna una idea del valor de la velocitat d'extracció (E), paràmetre que permetrà la comparació entre espècies. Quan s'efectua aquest càlcul, s'observa una similitud en els valors d'E (entre 0.07 i 0.1) en les diferents espècies, resultat que suggeriria una capacitat de depuració similar en totes les espècies.

Algunes espècies, però, s'aparten d'aquesta tendència general. En el cas del porc s'obté una E de 0.14 –fet que el situaria com a l'espècie amb una capacitat de depuració més elevada–, i gossos i vedells, amb un valor d'E de 0.05, serien les espècies amb menor capacitat de depuració sanguínia. El porc és l'única de les espècies estudiades en què s'ha detectat un cert grau de metabolisme hepàtic del TAP (EMEA, 1997), mentre que en la resta d'espècies aquest fàrmac pràcticament no es metabolitza, i s'elimina majoritàriament en forma inalterada per via renal (Uesugi et al., 1974). Així doncs, mentre que en la majoria d'espècies la Cl_T seria pràcticament igual a la Cl_R , en el porc aquesta Cl_T correspondria a la suma de la Cl_R i la Cl_H , que és el factor que contribuiria a augmentar el valor de la Cl_T en aquesta espècie.

Els resultats obtinguts en gossos i vedells es podrien interpretar com una capacitat de depuració més petita en aquestes espècies o fins i tot a causa de l'existència de diferències en els mecanismes d'excreció renal. Els processos involucrats en l'excreció renal són, principalment, la filtració glomerular, la secreció tubular i la reabsorció, i la magnitud de cadascun d'aquests processos pot ser diferent en les diverses espècies (Shargel & Yu, 1999), fet que podria influir en la capacitat d'extracció renal de cadascuna. La capacitat de filtració glomerular de cada espècie, és a dir, el ritme de filtració glomerular (GFR), es pot determinar mesurant l'aclariment d'inulina ($Cl_{inulina}$), una molècula que és totalment filtrada pel glomèrul i en l'eliminació de la qual no intervé cap altre procés. Si en l'excreció renal d'un determinat fàrmac només intervé aquest procés, es pot assumir que la Cl_R d'aquest fàrmac serà equivalent a la $Cl_{inulina}$ (Weiß et al., 1977). La bibliografia consultada (Adolph, 1949; Riviere, 1999) dona valors de $Cl_{inulina}$ menors que la Cl calculada en el present estudi per a totes les espècies –que és la Cl_{T-} , fet que suggereix que en l'eliminació del TAP intervenen altres mecanismes a més de la filtració glomerular, com poden ser la secreció tubular i la reabsorció, o fins i tot un cert grau de metabolisme hepàtic, tal i com està demostrat en el porc (EMEA, 1997).

En el cas dels vedells, el fet que fossin animals joves podria explicar aquest resultat, ja que la capacitat de bombeig de sang per part del cor –i, per tant, el flux sanguini– en animals joves és més baixa que en els adults (De Backer, 1985), circumstància que podria repercutir en la capacitat d'aclariment i donaria, per tant, valors de Cl més baixos en aquests animals. Estudis realitzats en vedells adults (Signorini et al., 1986; Abdennebi et al., 1994) recullen valors de Cl entre 6 i 8 ml/min·kg, de manera que la velocitat d'extracció calculada per a aquests animals estaria entre 0.08 i 0.1, valors que es troben dins del rang per a la majoria d'espècies del present treball.

El valor de la $t_{1/2}$ augmenta en augmentar el pes de l'espècie, és a dir, de manera inversa al valor de la Cl : com més capacitat presenta una espècie per a depurar la sang de fàrmac, menys temps romandrà en sang i, per tant, disminuirà la $t_{1/2}$. Segons aquest principi, la $t_{1/2}$ de gossos i vedells hauria de ser més elevada, ja que s'ha vist que presenten una velocitat d'extracció menor i, en canvi, no sembla que aquest valor s'aparti de l'esperat per la tendència general. De fet, la $t_{1/2}$ és un paràmetre calculat a partir de la constant de la fase terminal k_{10} , una constant híbrida que integra la k_{10} –constant d'eliminació des del compartiment central– i les constants k_{12} i k_{21} –que determinen la distribució entre els compartiments central i perifèric–. Per tant, en definitiva, la $t_{1/2}$ estarà condicionada tant per la distribució com per l'eliminació, i per això s'ha d'interpretar en funció d'aquests dos fenòmens i la seva possible variació. En aquest sentit, la informació que proporciona l'estudi al·lomètric i la predicció a partir de les equacions serà molt útil per a intentar explicar aquestes variacions, i també les de la resta de paràmetres estudiats, tal i com es discutirà en l'apartat següent.

ESTUDI AL LOMÈTRIC DELS PARÀMETRES FARMACOCINÈTICS

Els anomenats coeficient (a) i exponent (b) al·lomètrics són els paràmetres que defineixen l'equació al·lomètrica, $Y=a \cdot W^b$. Per a un paràmetre farmacocinètic donat, el coeficient al·lomètric és molt variable entre fàrmacs, de manera que pot considerar-se un valor que es relaciona amb les característiques fisicoquímiques del fàrmac. D'altra banda, l'exponent al·lomètric és més o menys constant per a cada paràmetre farmacocinètic, i això indicaria que està relacionat amb un procés fisiològic comú a totes les espècies (Ings, 1990). Com més proper a 1 sigui el valor de l'exponent, més proporcionalitat directa hi haurà entre el paràmetre i la funció fisiològica que, en la majoria de casos, és el pes corporal.

Les dades empíriques disponibles suggereixen que, per a la majoria de processos fisiològics, l'exponent al·lomètric b oscil·la entre 0.67 i 1, mentre que si el paràmetre representa una funció inversa d'un procés fisiològic, el terme exponencial serà 1-b (Riviere et al., 1997).

En el present estudi, l'exponent al·lomètric del V_{ss} i V és 0.92 en ambdós casos, valor molt proper a la unitat i que confirmaria la proporcionalitat entre aquests dos paràmetres del TAP i el pes de l'animal i, en conseqüència, la possible relació amb una funció fisiològica proporcional al pes corporal. En l'apartat anterior s'ha apuntat la possible relació directa entre els volums de distribució i l'aigua corporal, i se suggeria que el TAP es distribuiria quasi exclusivament en l'aigua extracel·lular. Per tant, la funció fisiològica que podria explicar la relació al·lomètrica entre el volum de distribució i el pes de l'espècie, amb un exponent al·lomètric proper a 1, seria el volum d'aigua corporal. Aquesta proporcionalitat també s'ha observat en altres fàrmacs, com l'eritromicina, el tolcapone, l'amfotericina B, la ciclosporina o la ciprofloxacina (Mahmood, 1998a).

La Cl és funció directa d'un procés fisiològic que involucra el flux sanguini. Tant si l'eliminació és fonamentalment per via hepàtica com si és per via renal, el flux sanguini que arriba a aquests òrgans és el que condiciona l'aport de fàrmac: al fetge, on serà metabolitzat, o al ronyó, on serà excretat. El flux sanguini depèn, en definitiva, del ritme cardíac, de manera que teòricament la Cl hauria de presentar un valor de l'exponent proper a 0.75, que és el valor de l'exponent en l'equació per al ritme cardíac (Boxenbaum, 1982b). Molts fàrmacs escalen amb un valor de l'exponent al·lomètric de la Cl proper a 0.75, com ara la cafeïna i la fenciclidina (Mahmood & Balian, 1996b) o el napsagatran (Lavé et al., 1999). Per al TAP, l'exponent de la Cl és 0.76, que confirmaria la dependència d'aquest paràmetre del flux sanguini. Tant el flux sanguini renal com l'hepàtic presenten una relació al·lomètrica amb el pes corporal, amb valors dels exponents al·lomètrics de 0.77 (Edwards, 1975) i 0.89 (Boxenbaum, 1980), respectivament. En la majoria d'espècies, el TAP s'elimina per via renal sense metabolitzar (Uesugi et al., 1974a) i, per tant, en aquest fàrmac la Cl podria escalar amb un valor de l'exponent corresponent a l'entrada de fàrmac al ronyó, és a dir, amb el 0.77 del flux sanguini

renal. L'exponent al·lomètric per a la Cl_{inulina} també pren un valor de 0.77, fet que podria fer pensar en la possibilitat que el TAP fos un fàrmac eliminat principalment per filtració glomerular. No obstant això, en l'apartat anterior s'ha apuntat la possible implicació d'altres mecanismes en l'eliminació renal del TAP a més de la filtració glomerular, a partir de la comparació dels valors de la Cl experimentals amb els de la Cl_{inulina} . Així, doncs, el fet que els exponents al·lomètrics siguin similars només indiquen la possible existència d'una relació entre el paràmetre i el procés. Els resultats, en definitiva, suggereixen que el TAP és majoritàriament eliminat per filtració glomerular en les espècies estudiades, amb la intervenció d'altres processos com la secreció i reabsorció tubulars i, en les espècies en què se n'ha observat la presència, un cert grau de metabolisme hepàtic.

La semivida, com a funció inversa de la Cl , teòricament escalarà amb un valor de 0.25, que correspon a la diferència entre l'exponent al·lomètric del volum de distribució (1) i la Cl (0.75). En el present estudi, els valors dels exponents d'aquests dos paràmetres són 0.92 i 0.76, respectivament i, per tant, la semivida hauria d'escalar amb un valor de 0.16. La semivida calculada en el present estudi és la de la fase terminal d'eliminació, és a dir, a partir del valor del pendent de la darrera fase de la corba, $t_{1/2\beta}$, i, per tant, el seu valor no és el mateix que el de la semivida biològica –la que es calcula a partir del V_{ss} i la Cl i que és el paràmetre que sí escala amb un valor de 0.16–. Així, doncs, l'exponent al·lomètric de l'equació per a aquest paràmetre no té perquè correspondre's i, de fet, l'exponent que s'obté és 0.20. Aquest fenomen ja és observat per Dedrick et al. (1970) en els treballs sobre el metotrexat.

L'efectivitat de la relació al·lomètrica entre diferents espècies per a un determinat paràmetre farmacocinètic es mesura a partir de la desviació del coeficient de correlació de la recta de regressió corresponent. Així, com més proper a 1 sigui el valor del coeficient de correlació, millor serà la relació al·lomètrica entre aquell paràmetre i el pes corporal. Els valors del coeficient de correlació de les rectes de regressió dels diferents paràmetres escalats (r^2) en el present estudi estan per sobre de 0.85, fet que assegura una bona correlació del paràmetre amb el pes. Aquesta bona correlació és el que s'espera en fàrmacs que, com el TAP, s'eliminen majoritàriament sense metabolitzar per via renal, com s'ha observat en la dideoxicitidina, la ranitidina, l'AZT (Mahmood, 1998b), l'oxitetraciclina, la clortetraciclina i la tetraciclina (Riviere, 1997). L'elevada correlació en fàrmacs d'aquestes característiques s'explica pel fet que l'excreció renal és un procés difícilment saturable en condicions normals i que dependrà essencialment del flux sanguini que arribi al ronyó i, per tant, de l'aport de fàrmac en aquest òrgan (Riviere, 1997).

Però no sempre una bona correlació és sinònim d'una predicció acurada dels paràmetres. Una manera d'avaluar la predictibilitat dels paràmetres a partir d'aquestes relacions al·lomètriques és calculant l'exactitud de la predicció mitjançant els errors mitjans (E.M.), és a dir, comparar el valor predit amb el valor experimental per a cada espècie. Considerant un 30% com a valor de referència per a avaluar la bondat de la predicció, els valors predits per a la Cl ,

per exemple, presenten desviacions superiors a aquest valor en quatre espècies, tot i que el coeficient de correlació és 0.976. El valor d'E.M. que s'ha triat com a valor de referència per tal d'avaluar la bondat de les prediccions (30%) està basat en els treballs de Mahmood (1998b). Aquest autor escull aquest valor de manera arbitrària i avalua l'exactitud de les prediccions considerant que, quan l'E.M. calculat per a un paràmetre supera aquest 30%, la predicció no és prou acurada. Aquesta ha estat l'única referència que s'ha pogut trobar en la bibliografia i per aquest motiu ha estat escollit com a valor en el present estudi.

Interpolació

La interpolació dels valors en la recta de regressió és possible només si es disposa de valors d'espècies de pes inferior i superior a l'espècie que es vol interpolar. La predicció de cada paràmetre en cada espècie s'ha dut a terme calculant la recta de regressió exclouent el valor del paràmetre de l'espècie que es vol interpolar per tal d'evitar la possible influència del valor de l'espècie en l'equació. Així doncs, en el cas dels extrems –ratolins i vedells– la predicció no s'ha fet per interpolació sinó per extrapolació. Tot i això, en la majoria de casos no s'han observat diferències significatives quan s'han predit els valors a partir de la recta calculada amb totes les espècies, excepte en el cas de la $t_{1/2}$ i la CI dels ratolins, en què el valor de l'E.M. disminueix quan es prediuen els valors a partir de la recta amb totes les espècies (dades no incloses). Aquesta diferència era d'esperar en una espècie que està en un extrem de la recta, ja que aquestes són més susceptibles de presentar errors més elevats a causa de la major influència que tenen en la determinació de l'equació.

Els vedells, que són l'extrem superior de la recta, en canvi, presenten E.M. elevats en la predicció de la CI tant si es considera el seu valor en la construcció de la recta com si no, i això es pot interpretar com una característica diferencial d'aquests animals en particular i no com a res relacionat amb el mètode de predicció. El valor de la CI predit per a aquesta espècie és superior a l'experimental, tal i com s'observava en l'estudi dels valors de la velocitat d'extracció, en l'apartat anterior, però aquesta diferència no es reflectí en el valor de la $t_{1/2}$, que presentà desviacions baixes. Aquest és un bon exemple de la cautela amb què s'ha d'interpretar la $t_{1/2}$, com a paràmetre lligat als fenòmens de distribució i eliminació. També en els gossos s'observa un valor predit de la CI superior a l'observat, i en aquesta espècie tampoc s'observà error en la predicció de la $t_{1/2}$.

Aquestes desviacions dels valors predits de la CI podrien indicar l'existència d'alguna característica diferencial en l'eliminació del TAP en aquestes espècies. Un valor de CI predit superior a l'experimental –com passa en gossos i vedells– s'interpreta com una capacitat d'aclariment menor del que s'esperaria segons el pes de l'espècie, de manera que és possible que hi hagi algun factor fisiològic que estigui alterant aquesta relació. En gossos i vedells no està descrit un grau significatiu de metabolisme hepàtic d'aquest fàrmac, de manera que s'accepta que l'eliminació és, majoritàriament, per via renal sense metabolitzar, però també és

cert que els diferents mecanismes d'excreció renal (filtració glomerular, secreció tubular i reabsorció tubular) podrien estar presents en diferent grau en les diferents espècies, i això podria influenciar la capacitat d'aclariment de cadascuna. També s'ha parlat, en l'apartat anterior, de la possibilitat que l'edat dels vedells podria ser un factor d'influència en el valor de la Cl: el fet que aquests animals no fossin adults podria ser la resposta a una capacitat d'aclariment inferior a l'esperada. Es podria pensar que, en animals joves, les funcions renals de filtració glomerular i secreció tubular no estan plenament desenvolupades, i això és cert en espècies com el gos o el porc, en les quals el desenvolupament postnatal d'aquestes funcions és lent, però en canvi és molt ràpid en els bovins, en els quals s'arriba als valors adults al cap d'entre 1 i 3 dies del naixement (De Backer, 1985). En canvi, un flux sanguini menor que en els animals adults (De Backer, 1985), tal i com s'ha comentat en l'apartat anterior, sí que podria explicar aquesta desviació. En el cas dels porcs, la situació és exactament la contrària, és a dir, el valor predit de la Cl és menor que l'experimental, fet que suggereix una major capacitat de depuració de la que els correspondria segons el pes. Aquesta observació coincideix amb el valor d'E calculat i discutit en l'apartat anterior, i es podria explicar per la presència d'un grau significatiu de metabolisme hepàtic en aquesta espècie (EMEA, 1997) que contribuís a augmentar el valor de la Cl respecte del que es veu en la resta d'espècies.

Així, doncs, els resultats suggereixen que, tot i presentar una correlació elevada, la predicció de la Cl a partir de l'equació al·lomètrica simple pot no ser suficientment acurada en alguns casos, sobretot en aquelles espècies en què els processos fisiològics d'eliminació presenten característiques específiques, com ara el metabolisme hepàtic en els porcs o una possible variabilitat interespecífica en els mecanismes d'excreció renal del TAP. En aquest sentit, seria interessant dur a terme estudis sobre metabolisme i excreció per tal de detectar la causa exacta d'aquestes diferències. També caldria tenir en compte les edats dels animals, un factor que pot influenciar el valor dels paràmetres cinètics per diferències en funcions fisiològiques respecte de l'edat adulta, com ara el flux sanguini, la capacitat metabòlica o el desenvolupament dels òrgans (Riviere, 1999). Aquestes funcions solen estar disminuïdes en neonats respecte de l'edat adulta, de manera que el seu desenvolupament s'esdevindrà al llarg dels primers mesos de vida. El ritme d'aquest desenvolupament, a més, és diferent segons l'espècie: la funció renal en bovins i ovins, per exemple, es desenvolupa molt ràpidament i, en canvi, en el porc, l'home i el gos és més lenta (De Backer, 1985).

Les prediccions del V_{ss} presenten desviacions per sota del 30% en totes les espècies, i només els gossos tenen un valor lleugerament superior en el V (36%). En aquest cas, doncs, coincideix una bona predicció amb valors elevats dels coeficients de correlació, que foren 0.997 per al V_{ss} i 0.996 per al V . Aquests resultats eren esperables perquè, tal com s'ha suggerit anteriorment, el TAP és un fàrmac que es distribueix de manera similar en totes les espècies i la seva distribució dependrà de les seves característiques físicoquímiques i del volum d'aigua corporal, sense intervenció de fenòmens de retenció del fàrmac en teixits específics –com ara el

greix corporal o d'unió a macromolècules–, fet que podria dificultar l'escalatge, ja que no hi ha relació al·lomètrica entre la capacitat d'unió a proteïnes i el pes corporal (Lin, 1995).

Els E.M. calculats per a la predicció de la $t_{1/2}$ són elevats, sobretot en ratolins, conills i porcs. Quan s'inclou el valor dels ratolins en l'equació, l'E.M. corresponent a aquesta espècie és molt menor, fet que confirma la gran influència que té aquest valor, com a extrem, en l'equació. En els porcs, el valor interpolat de $t_{1/2}$ fou superior a l'experimental; aquest resultat està d'acord amb el que s'ha vist per a la Cl: aquest paràmetre presentava un valor experimental superior al predit, és a dir, una capacitat d'aclariment més elevada del que s'esperava, i això, lògicament, dona un valor de la $t_{1/2}$ menor que el predit per l'equació. En l'estudi de l'eliminació d'un fàrmac, però, no és la interpretació de la $t_{1/2}$ el que dona una visió clara del fenomen sinó la Cl, que reflecteix realment la capacitat que una determinada espècie presenta per a eliminar aquell fàrmac en concret. La $t_{1/2}$ és un paràmetre útil a l'hora d'establir intervals de dosificació en una determinada espècie i per la via d'administració estudiada, ja que reflecteix el ritme de desaparició del fàrmac de la sang en aquella situació concreta, però en canvi no dona cap informació sobre els fenòmens fisiològics involucrats. Per tant, la interpretació d'aquest paràmetre en termes fisiològics és difícil, i la seva importància té un sentit de cara a la pràctica clínica, en el càlcul de règims posològics (Riviere, 1999).

DISPOSICIÓ DEL TAP EN DIFERENTS COORDENADES DE TEMPS

Els gràfics de temps-concentració plasmàtica de les diferents espècies, que es mostren en la **figura 3**, reflecteixen el perfil de disposició del TAP, en coordenades de temps cronològic, de cadascuna. Les diferències entre les corbes són evidents, de manera que les concentracions plasmàtiques de TAP disminueixen més ràpidament en les espècies petites que en les grans. Això s'explica, en part, pel fet que en els animals petits els òrgans involucrats en l'eliminació són més grans, en proporció al seu pes, que en els animals grans. Quan s'intenta ajustar-les totes a una sola equació (**figura 5**), la dispersió dels punts, sobretot en la fase d'eliminació terminal, fa difícil la coincidència en un perfil comú. El temps cronològic, que és la mesura de temps utilitzada en la vida diària, està basat en una referència externa de l'animal. Si es converteix aquest temps cronològic en una mesura de temps que tingui l'animal com a referència –un temps biològic o temps fisiològic– resultarà un temps independent de l'espècie (Boxenbaum, 1986), de manera que la dispersió que s'observava en el temps cronològic disminueix i la coincidència en un perfil únic és més elevada. Els primers autors que van aplicar aquest concepte de temps als estudis farmacocinètics foren Dedrick et al. (1970) en un estudi sobre el metotrexat en diferents espècies, en el qual es transformaren els temps cronològics mitjançant l'expressió $W^{0.25}$, on W és el pes corporal i 0.25 és l'exponent al·lomètric de l'equació de la semivida per al metotrexat. Mitjançant aquesta transformació els autors aconseguiren la superposició dels perfils cinètics de les cinc espècies.

La transformació dels temps cronològics en el present estudi per obtenir els corresponents temps equivalents s'ha dut a terme utilitzant el valor 0.20 com a exponent del pes corporal ($t/W^{0.20}$), que és l'exponent al·lomètric de l'equació de la semivida per al TAP obtingut en l'estudi de les equacions al·lomètriques d'aquest paràmetre respecte del pes. Amb aquesta transformació, la dispersió dels punts és menor, i quan es du a terme l'ajust a una sola corba el valor de la suma de diferències (SoD) disminueix respecte de l'obtinguda amb l'ajust anterior (9.4 respecte de 17.7), és a dir, que els punts experimentals s'allunyen menys de la corba comuna. Això significa que quan s'analitza la disposició del TAP en les diferents espècies tenint en compte, no el temps cronològic que emprava cadascuna a realitzar tots aquests processos, sinó un temps fisiològic basat en el temps que emprava qualsevol espècie en disminuir la concentració plasmàtica del fàrmac a la meitat, les diferències en la manera com cada espècie "disposa" del TAP disminueixen i el seu perfil de disposició del fàrmac esdevé similar. En fàrmacs que no presenten metabolisme hepàtic l'ajust del temps equivalent sol donar bons resultats, com és el cas de la doxiciclina (Riond & Riviere, 1989) i l'interferó A (Lavé et al., 1995).

L'ajust dels kallynochrons, que té en compte l'exponent de l'equació de la CI i que considera que l'exponent del volum de distribució és 1 ($t/W^{1-0.76}$), no representa una millora respecte del temps equivalent, ja que dona una SoD de 9.6. És a dir, quan es pren com a referència temporal el temps que necessita qualsevol espècie per a depurar de fàrmac el mateix volum de plasma per kilogram de pes, no s'aconsegueix una millora substancial de la superposició dels perfils de les diferents espècies. Aquest fenomen també és observat per Mahmood (1999) en l'etosuximida, la ciclosporina i la ciprofloxacina, quan compara diferents tipus d'ajustos de temps farmacocinètic en aquests fàrmacs. També es troben bondats d'ajust semblants entre el temps equivalent i els kallynochrons en l'interferó A (Lavé et al., 1995). Com que l'exponent de l'equació del volum de distribució per al TAP no és exactament igual a 1, és comprensible que l'ajust no sigui del tot acurat.

En canvi, la bondat d'ajust augmenta quan es calculen els apolysichrons (5.7), que tenen en compte l'exponent del volum de distribució ($t/W^{0.92-0.76}$), una unitat de temps que es basa en el temps necessari perquè cadascuna de les espècies elimini la mateixa fracció de fàrmac i depuri el mateix volum de plasma per kilogram de pes corporal. Aquesta millora és lògica, ja que l'exponent al·lomètric de l'equació per al volum de distribució del TAP no és igual a 1, i en utilitzar el valor real d'aquest exponent, l'ajust millora respecte de l'aconseguit amb els kallynochrons que, en aquest cas, consideren un valor de l'exponent diferent de l'experimental. En altres fàrmacs també s'ha observat una millora de l'ajust en utilitzar aquest temps farmacocinètic respecte dels kallynochrons, com és el cas del clordiazepòxid (Boxenbaum & Ronfeld, 1983), l'interferó A (Lavé et al., 1995), i la propafenona (Puigdemont et al., 1993).

L'ajust dels diferents perfils, en canvi, empitjora quan es representen els dienetichrons (SoD = 10.4), un tipus d'ajust que té en compte el valor de MLP, un índex de l'esperança de

vida ($t/(MLP \times W^{0.92})$). De fet, el grup de fàrmacs que millor s'ajusta a les transformacions que tenen en compte el potencial de vida en el càlcul del temps farmacocinètic és el dels fàrmacs que presenten metabolisme hepàtic lligat a sistemes MFO –fàrmacs d'aclariment baix–, com és el cas de la ciclosporina i la ciprofloxacina, en els quals s'aconsegueix el millor ajust amb dienetichrons (Mahmood & Yuan, 1999), i la propafenona (Puigdemont et al., 1993) i l'amfotericina B (Hutchaleelaha et al., 1997), que presenten un bon ajust a syndesichrons, una altra mesura de temps farmacocinètic que té en compte el pes del cervell (Boxenbaum, 1984).

En el cas del TAP, doncs, sembla que cal tenir en compte els valors dels exponents del volum de distribució i de la CI per tal d'aconseguir una millor superposició dels perfils de les diferents espècies, ja que és l'ajust dels apolysichrons el que dona un valor de dispersió més baix. El càlcul amb dienetichrons dut a terme per al TAP no ofereix una millora de l'ajust, fet que suggereix que aquest tipus de transformació no és indicat per a tots els fàrmacs. És aquest un dels punts més criticats d'aquest tipus d'estudis: com saber, a priori, quin tipus d'ajust s'ha d'aplicar a un fàrmac en concret? L'única resposta és que això depèn de la naturalesa del fàrmac i la seva disposició en les diferents espècies: els estudis realitzats suggereixen que la predicció en fàrmacs amb metabolisme hepàtic que involucri sistemes MFO cal tenir en compte factors com l'MLP, mentre que l'al·lometria simple dona bons resultats en fàrmacs eliminats per via renal sense metabolitzar o per via hepàtica amb aclariment elevat (Bonate & Howard, 2000; Mahmood, 2000).

Els apolysichrons, doncs, sembla que són la unitat de temps farmacocinètic que millor defineix el comportament del TAP en les diferents espècies d'una manera comú a totes elles. És a dir, si en lloc de prendre com a referència el temps cronològic per a estudiar el comportament farmacocinètic del TAP en diverses espècies, es pren el temps que triga qualsevol espècie a eliminar la mateixa fracció de TAP i a depurar de TAP el mateix volum de plasma, s'observa que aquest comportament, que semblava tan diferent en una escala de temps cronològic, esdevé equivalent. Segons aquesta nova escala temporal, la semivida d'eliminació del TAP, que varia amb el pes de l'animal quan es mesura en temps cronològic, seria la mateixa en totes les espècies, i equivaldria a 42.3 apolysichrons, que és el valor de la $t_{1/2}$ obtingut de l'ajust d'aquestes unitats. L'explicació d'aquest sincronisme entre espècies és l'anomenada *Teoria del Ritme Metabòlic Absolut* (Boxenbaum, 1984), segons la qual tots els animals tenen la mateixa quantitat d'energia vital, de manera que el màxim potencial de vida de cada espècie estaria definit per la velocitat amb què utilitzi aquesta energia. Per tant, els animals que viuen menys temps –en general els més petits– utilitzarien aquesta energia més ràpidament que els animals longeus, i això justificaria per què l'eliminació és més ràpida en els animals petits que en els grans.

Interpolació

L'anàlisi d'aquest perfil únic aconseguït amb els apolysichrons proporciona uns determinats valors dels paràmetres farmacocinètics que es poden utilitzar, efectuant les conversions adequades per tal de transformar-los en coordenades de temps cronològic, per a calcular els paràmetres en cada espècie. Les prediccions efectuades mitjançant aquest mètode presenten, en general, valors d'E.M. més elevats que en la predicció a partir de les equacions al·lomètriques, i segueixen la tendència que s'observava també en la predicció a partir de l'equació al·lomètrica, en el sentit que els paràmetres amb E.M. menors són els dos volums de distribució, mentre que la Cl i la $t_{1/2}$ presenten errors més elevats, com es pot observar en les **taules 10, 11 i 12.**

Els resultats suggereixen que la predicció dels paràmetres farmacocinètics del TAP a partir de les equacions al·lomètriques és més acurada, amb errors més baixos respecte dels valors experimentals, tot i que les diferències amb la predicció a partir de l'ajust a un sol perfil no són molt grans. Aquest resultat coincideix amb estudis realitzats amb altres fàrmacs, com ara l'etosuximida (Mahmood & Yuan, 1999), en el qual s'observa que la predicció dels paràmetres farmacocinètics en humans a partir de les relacions al·lomètriques en altres espècies és acurada i dona valors semblants als obtinguts mitjançant l'ajust a temps farmacocinètic. Segons aquest mateix estudi, quan les relacions al·lomètriques no funcionen, tampoc ho fan els mètodes de temps farmacocinètic, tal i com es descriu per a la ciclosporina i la ciprofloxacina (Mahmood & Yuan, 1999). Aquest raonament és lògic, ja que ambdós mètodes utilitzen la mateixa base matemàtica per a assolir el mateix objectiu, però per dos camins diferents, de manera que el resultat ha de ser, a priori, el mateix. No obstant això, en un estudi de la disposició del napsagatran en humans a partir de dades en animals (Lavé et al., 1999), els autors obtenen valors dels paràmetres farmacocinètics més propers als experimentals quan apliquen transformacions de temps equivalent que amb l'estudi al·lomètric dels paràmetres.

IMPORTÀNCIA PRÀCTICA DELS RESULTATS

Els resultats del present treball suggereixen una predictibilitat dels paràmetres cinètics del TAP a partir de les tècniques d'escalatge interespecífic acceptable, especialment quan les espècies implicades en l'anàlisi no presenten diferències en els mecanismes d'eliminació d'aquest fàrmac. Per tal d'elucidar les causes de la variabilitat interespecífica d'alguns paràmetres, sobretot la Cl, caldria efectuar estudis sobre metabolisme i excreció del fàrmac en cada espècie, així com d'unió a proteïnes. En aquest sentit, seria interessant utilitzar els resultats d'aquests estudis en l'elaboració de models que combinen els aspectes farmacocinètics del fàrmac amb un model fisiològic, de manera que, un cop obtingut el model per a una espècie en concret l'extrapolació a una altra espècie només requeriria la introducció dels paràmetres fisiològics i farmacocinètics en el model. De tota manera, l'al·lometria simple pot ser una eina

vàlida per a la predicció dels paràmetres cinètics del TAP en espècies no estudiades, si més no en un intent d'estimació inicial d'aquests paràmetres quan no es disposa de cap informació prèvia en aquella espècie. Especialment útil pot ser en el disseny experimental, per exemple en la selecció de dosis en estudis pilot realitzats en espècies desconegudes.

S'ha intentat, en el present treball, la interpolació d'una espècie diferent de les estudiades per tal de comprovar la predictibilitat amb dades procedents de la bibliografia. Les úniques espècies de les quals s'ha trobat informació sobre la cinètica iv foren cabres (Lavy et al., 1991) i humans (Azzollini et al., 1970; Moskovchenko et al., 1971; Tacquet et al., 1974). En humans, considerant un pes corporal de 70 kg, la interpolació en l'equació al·lomètrica de la semivida del present estudi dona un valor de 2.2 h. Diverses referències bibliogràfiques donen valors únicament de la semivida del TAP, i la diferència segons la font consultada és molt gran: 35 min (Tacquet et al., 1974), 1.3 h (Moskovchenko et al., 1971) i 2.1 h (Azzollini et al., 1970), fet que fa difícil discernir a partir d'aquest resultat si la predicció és acurada o no. Aquestes diferències poden ser atribuïbles al mètode de determinació del TAP en les mostres utilitzat pels autors, que es basa en tècniques microbiològiques. En aquest tipus de tècnica la precisió i l'exactitud solen ser baixes –fet que condueix a una elevada variabilitat en els resultats– i el límit de quantificació elevat en comparació amb les tècniques cromatogràfiques –les mostres amb petites quantitats de fàrmac no entren en l'anàlisi–. A més, els mètodes utilitzats en l'ajust de les dades presenten les limitacions pròpies de l'època en què es van efectuar aquests estudis. Aquestes limitacions converteixen els resultats de l'anàlisi en valors molt variables i poc fiables o, si més no, poc comparables amb els resultats obtinguts en estudis més actuals.

En el cas de les cabres, els E.M. obtinguts són inferiors al 30% en els volums de distribució, lleugerament superior en la Cl (31%) i molt més alt en la semivida (-111%). El càlcul d'aquests paràmetres a partir de l'ajust dels apolysichrons ofereix uns resultats similars. Sembla, doncs, que el patró descrit per a la predicció dels paràmetres del TAP en el present estudi es continua complint: la semivida és la que presenta una predictibilitat més baixa, mentre que la de l'aclariment i els volums de distribució són acceptables. Aquests valors predits poden ser útils en el càlcul de règims posològics: es pot calcular la dosi necessària per aconseguir una determinada concentració a partir del volum de distribució, que ja s'ha vist que presenta una bona predictibilitat, i l'interval de dosificació –en el cas de dosis múltiples– a partir del valor de semivida.

Els resultats del present estudi, doncs, juntament amb la bibliografia disponible, suggereixen que el tipus d'ajust que s'ha d'aplicar a un fàrmac en concret per tal d'obtenir una bona predicció depèn d'una gran quantitat de factors, que van des de la naturalesa del fàrmac i les seves propietats farmacocinètiques fins a la variabilitat interespecífica en els mecanismes de metabolisme i excreció. No existeix, ara com ara, un tipus d'ajust concret que es pugui aplicar a qualsevol fàrmac amb garantia d'èxit. Així com la utilitat de l'escalatge al·lomètric com a estudi retrospectiu –és a dir, per a establir comparacions entre espècies un cop es té tota la

informació sobre el fàrmac en aquestes espècies— està prou reconeguda, alguns autors qüestionen la seva utilitat en forma prospectiva, és a dir, per a la predicció del comportament cinètic d'un fàrmac en una espècie determinada —referit especialment a l'home— a partir de les relacions en altres espècies (Bonate & Howard, 2000). Les crítiques es basen en la naturalesa empírica d'aquest tipus d'estudis i en el fet que la seva validesa es fonamenti en treballs publicats en els quals la predicció funciona, mentre que no es publiquen aquells en els quals no funciona. Afortunadament, però, cada vegada es troba en la literatura més estudis en els quals l'escalatge al·lomètric no té èxit (Mahmood, 1998b; Pahlman et al., 1998; Lavé et al., 1999), i probablement aquesta és la clau per a millorar aquesta eina i fer-la més robusta: intentar explicar els motius pels quals no serveix en determinats casos i utilitzar aquesta informació per a trobar una fórmula "universal". Així, doncs, i mentre no es disposi d'una eina més fiable, l'exemple de l'emperador de Liliput continua essent vàlid com a punt de partida de la comparació entre espècies.

Conclusions

1. En totes les espècies estudiades, el perfil de disposició del TAP s'ajusta a un model bicompartimental, amb una fase de disposició ràpida, associada majoritàriament a la distribució, i una fase lenta en la qual predomina l'eliminació.
2. Els valors del V_{ss} suggereixen que el TAP es distribueix àmpliament als teixits ben irrigats, i la similitud d'aquests valors en totes les espècies estudiades fa pensar que no es produeix una unió a proteïnes significativa, i que aquesta unió pot ser molt similar en totes elles.
3. La Cl disminueix en augmentar el pes de l'animal. Els porcs presenten una capacitat de depuració sanguínia –mesurada per la velocitat d'extracció, E– més elevada que la resta d'espècies, explicable per la presència d'un cert grau de metabolisme en aquesta espècie que no s'ha descrit en la resta. En els gossos i els vedells, aquesta capacitat de depuració és menor que en la resta, fet que es podria explicar per l'existència de diferències en els mecanismes d'excreció renal o, en el cas dels vedells, a causa de l'edat dels animals tractats.
4. La $t_{1/2}$ augmenta en augmentar el pes de l'espècie, és a dir, de manera inversa a la Cl.
5. Els exponents de les equacions al·lomètriques prenen valors dins del rang esperat per a cada paràmetre i els coeficients de correlació són acceptables, amb valors superiors a 0.85.
6. La bondat de la predicció dels valors dels V_d és acceptable en totes les espècies, amb E.M. inferiors al 30%. Aquesta predicció és menys acurada per a la Cl i la $t_{1/2}$, en les quals l'E.M. supera el 30% en algunes espècies.
7. Les coordenades de temps farmacocinètic que millor ajusten els perfils de disposició de les diferents espècies a un de sol són els apolysichrons.
8. La predicció dels paràmetres farmacocinètics a partir d'aquest ajust dóna, en general, valors d'E.M. superiors als calculats a partir de les equacions al·lomètriques, motiu pel qual, en el cas del TAP, seria aconsellable efectuar les prediccions a partir de les equacions al·lomètriques dels paràmetres respecte del pes.

Bibliografia

- Abdennebi, E.H., Sawchuk, R.J. & Stowe, C.M. (1994a). Thiamphenicol pharmacokinetics in beef and dairy cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 17: 365-368.
- Abdennebi, E.H., Khales, N., Sawchuk, R.J. & Stowe, C.M. (1994b). Thiamphenicol pharmacokinetics in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 17: 12-16.
- Abou-el-Makarem, M.M., Millburn, P., Smith, R.L. & Williams, R.T. (1967). Biliary excretion of foreign compounds. Benzene and its derivatives in the rat. *Biochemical Journal* 105: 1269-1274.
- Abou-el-Makarem, M.M., Millburn, P., Smith, R.L. & Williams, R.T. (1967). Biliary excretion of foreign compounds. Species differences in biliary excretion. *Biochemical Journal* 105: 1289-1293.
- Adolph, E.F. (1949). Quantitative relations in the physiological constitutions of mammals. *Science* 109: 579-585.
- Akaike, H. (1976). An information criterion (AIC). *Mathematical Sciences* 14: 5-9.
- Ando, J., Ishihara, R., Imai, S., Takano, S., Kitamura, T., Takahashi, M., Yoshida, M. & Maekawa, A. (1997). Thirteen-week subchronic toxicity study of thiamphenicol in F344 rats. *Toxicology Letters* 91: 137-146.
- Anònim (1974). Thiamphenicol. Pharmacokinetics and metabolism in animals. Zambon S.P.A. Research Laboratories. Milan, Italy.
- Aoyama, T. & Iguchi, S. (1969). Determination of thiamphenicol in biological fluids by gas chromatography. *Journal of Chromatography* 43: 253-256.
- Azanza, J.R., Honorato, J. & Mediavilla, A. (1997). Tetraciclina, cloranfenicol y otros antibióticos. A: *Farmacología Humana*. Ed. Flórez, J. pp. 1136-1138. Barcelona: Masson.
- Azzollini, F., Gazzaniga, A. & Lodola, E. (1970). Thiamphenicol excretion in subjects with renal insufficiency. *International Journal of Clinical Pharmacology* 4: 303-308.
- Baggot, J.D. (1977). *Principles of drug disposition in domestic animals: the basis of veterinary clinical pharmacology*. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Bonate, P.L. & Howard, D. (2000). Prospective allometric scaling: does the emperor have clothes? *Journal of Clinical Pharmacology* 40: 665-670.
- Bonati, N., Latini, R., Tognoni, G., Young, J.F. & Garattini, S. (1985). Interspecies comparison of in vivo caffeine pharmacokinetics in man, monkey, rabbit, rat, and mouse. *Drug Metabolism Review* 15: 1355-1383.
- Boxenbaum, H. (1980). Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 8: 165-176.
- Boxenbaum, H. (1982a). Comparative pharmacokinetics of benzodiazepines in dog and man. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 10: 411-426.

- Boxenbaum, H. (1982b). Interspecies scaling, allometry, physiological time, and the ground plan of pharmacokinetics. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 10: 201-227.
- Boxenbaum, H. (1983). Evolutionary biology, animal behavior, fourth-dimensional space, and the *raison d'être* of drug metabolism and pharmacokinetics. *Drug Metabolism Reviews* 14: 1057-1097.
- Boxenbaum, H. (1984). Interspecies pharmacokinetic scaling and the evolutionary-comparative paradigm. *Drug Metabolism Reviews* 15: 1071-1121.
- Boxenbaum, H. (1986). Time concepts in physics, biology, and pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 75: 1053-1062.
- Boxenbaum, H. & D'Souza, R. (1987). Interspecies pharmacokinetic scaling in reductionist and allometric paradigms. A: *Topics in Pharmaceutical Sciences*. Ed. Breimer, D.D. & Speiser, P. pp. 59-61. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Boxenbaum, H. & D'Souza, R. (1987). Physiological models, allometry, neoteny, space-time and pharmacokinetics. A: *Pharmacokinetics: Matematical and Statistical Approaches to Metabolism and Distribution of Chemical and Drugs*. Ed. Pecile, A. & Rescigno, A. pp. 191-214. New York: Plenum Press.
- Boxenbaum, H. & Ronfeld, R. (1983). Interspecies pharmacokinetic scaling and the Dedrick plots. *American Journal of Physiology* 245: R768-R775.
- Brocks, D.R. & Toni, J.W. (1999). Pharmacokinetics of halofantrine in the rat: stereoselectivity and interspecies comparison. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 20: 165-169.
- Campbell, D.B. & Ings, R.M.J. (1988). New approaches to the use of pharmacokinetics in toxicology and drug development. *Human Toxicology* 7: 469-479.
- Castells, G., Intorre, L., Bertini, S., Cristòfol, C., Soldani, G. & Arboix, M. (2000). Oral single-dose pharmacokinetics of thiamphenicol in the sea-bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 23: 53-54.
- Castells, G., Intorre, L., Franquelo, C., Cristòfol, C., Pérez, B., Martí, G. & Arboix, M. (1998). Pharmacokinetics of thiamphenicol in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 59: 1473-1475.
- Castells, G., Prats, C., El Korchi, G., Pérez, B., Martí, G., Arboix, M. & Cristòfol, C. (1999). Thiamphenicol disposition in pigs. *Research in Veterinary Science* 66: 219-222.
- Cattabeni, F. & Gazzaniga, A. (1974). Identification of thiamphenicol excretion products in rat urine using gas-chromatography-mass-spectrometry. *Postgraduate Medical Journal* 50: 23-27.
- Chappell, W.R. & Mordenti, J. (1991). Extrapolation of toxicological and pharmacological data from animals to humans. A: *Advances in Drug Research*. Ed. Testa, B. pp. 1-116. London, UK: Academic Press.

- CGCOFE (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España). <http://www.cof.es> (2000a). Cloranfenicol.
- CGCOFE (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España). <http://www.cof.es> (2000b). Tiamfenicol.
- Collins, J.M., Zaharko, D.S., Dedrick, R.L. & Chabner, B.A. (1986). Potential roles for preclinical pharmacology in phase I clinical trials. *Cancer Treatment Reports* 70: 73-80.
- Cosson, V., Fuseau, E., Efthymiopoulos, C. & Bye, A. (1995). From animal to man. *3rd Population Approach Group in Europe Meeting*.
- Craigmill, A.L., Sundlof, S.F. & Riviere, J.E. (1994). *Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Therapeutic Drugs*. Boca Raton: CRC Press.
- Cutler, R.A., Stenger, R.J. & Suter, C.M. (1952). *Journal of the American Chemical Society* 74: 5475.
- Davis, L.E., Neff-Davis, C.A., Baggot, J.E. & Powers, T.E. (1972). Pharmacokinetics of chloramphenicol in domesticated animals. *American Journal of Veterinary Research* 33: 2259-2266.
- De Backer, P. (1985). Comparative neonatal pharmacokinetics. A: *Proceedings of the 3rd Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT)*. Ed. Van Miert, A.S.J.P.A.M., Bogaert, M.G. & Debackere, M. Ghent. Belgium: MTP Press Limited.
- De Corte-Baeten, K. & Debackere, M. (1975). Chloramphenicol plasma levels in horses, cattle and sheep after oral administration. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 22: 704-712.
- Debacker, P., Debackere, M. & De Corte-Baeten, T. (1978). Plasma levels of chloramphenicol after oral administration in calves during the first week of life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1: 135-140.
- Dedrick, R.L., Bishoff, K.B. & Zaharko, D.Z. (1970). Interspecies correlation of plasma concentration history of methotrexate (NSC-740). *Cancer Chemotherapy Reports* 54, Part I: 95-101.
- Doona, M. & Walsh, J.B. (1995). Use of chloramphenicol as ocular eye medication: time to cry halt? *British Medical Journal* 310: 1217-1218.
- Edwards, N.A. (1975). Scaling of renal function in mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology* 52A: 63-66.
- Ellis, J., Bagshaw, C.R. & Shaw, W.V. (1995). Kinetic mechanisms of chloramphenicol acetyltransferase: the role of ternary complex interconversion in rate determination. *Biochemistry* 34: 16852-16859.
- EMA (1997). Tiamfenicol. Summary Report (2). London: Committee for Veterinary Medicinal Products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit.

- EMEA (1998a). Thiamphenicol (extension to pigs, sheep and fin fish). Summary Report (3). London: Committee for Veterinary Medicinal Products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit.
- EMEA (1998b). Guideline on validation of analytical procedures: methodology. VICH Topic GL2. London: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit.
- EMEA (2000). Consolidated version of Annex I to IV of the Council Regulation nº 2377/90 London: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit.
- Farrier, D.S. (1997). PK Solutions. Ashlane. USA: Summit Research Services.
- Ferrari, V. (1984). Introductory address-Salient features of thiamphenicol: review of clinical pharmacokinetics and toxicity. *Sexually Transmitted Diseases* 11: 336-339.
- Ferrari, V. & Della Bella, D. (1974). Comparison of chloramphenicol and thiamphenicol metabolism. *Postgraduate Medical Journal* 50: 17-22.
- Ferrari, V. & Pajola, E. (1981). Types of haemopoietic inhibition by chloramphenicol and thiamphenicol. A: *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy*. ed. Najean, Y., Tognoni, G. & Yunis, A.A. pp. 43-59. New York: Rave Press.
- Firkin, F.C. (1972). Mitochondrial lesions in reversible erythropoietic depression due to chloramphenicol. *The Journal of Clinical Investigation* 51: 2085-2092.
- Freireich, E.J., Gehan, E.A., Rall, D.P., Schmidt, L.H. & Skipper, H.E. (1966). Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man. *Cancer Chemotherapy Reports* 50: 219-244.
- Galilei, G. (1637). *Dialogues concerning two new sciences*. New York: MacMillan.
- Gámez, A., Pérez, Y., Martí, G., Cristòfol, C. & Arboix, M. (1992). Pharmacokinetics of thiamphenicol in veal calves. *British Veterinary Journal* 148: 535-539.
- Gazzaniga, A., Pezzotti, E. & Cotta Ramusino, A. (1973). A rapid gas chromatographic method for the determination of thiamphenicol in body fluids and tissues. *Journal of Chromatography* 81: 71-77.
- Gibaldi, M. & Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics*. New York: Marcel Dekker.
- Gombar, C.T., Harrington, G.W., Pyilpiw, H.M., Anderson, L.M., Palmer, A.E., Rice, J.M., Magee, P.N. & Burak, E.S. (1990). Interspecies scaling of the pharmacokinetics of n-nitrosodimethylamine. *Cancer Research* 50: 4366-4370.
- Gould, S.J. (1977). *Ontogeny and Phylogeny*. Cambridge, MA: The Belknap Press of Harvard University Press.
- Gronert, G.A., Fung, D.L., Jones, J.H., Shafer, S.L., Hildebrand, S.V. & Disbrow, E.A. (1995). Allometry of pharmacokinetics and pharmacodynamics of the muscle relaxant metocurine in mammals. *American Journal of Physiology* 268: R85-91.

- Ho, S.-P., Hsu, T.-Y., Chen, M.-H. & Wang, W.-S. (2000). Antibacterial effect of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol against aquatic animal bacteria. *Journal of Veterinary Medical Science* 62: 479-485.
- Hutchaleelaha, A., Chow, H.-H. & Mayersohn, M. (1997). Comparative pharmacokinetics and interspecies scaling of amphotericin B in several mammalian species. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49: 178-183.
- Huxley, J.S. (1932). *Problems of relative growth*. London: Methuen.
- Ibrahim, S.S. & Boudinot, F.D. (1989). Pharmacokinetics of 2',3'-dideoxycytidine in rats: application to interspecies scale-up. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 41: 829-834.
- Inamoto, T., Kikuchi, K., Iijima, H., Kawashima, Y., Nakai, Y. & Ogimoto, K. (1994a). Antibacterial activity of tilmicosin against *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pneumonic lesions in swine. *Journal of Veterinary Medical Science* 56: 917-921.
- Inamoto, T., Takahashi, H., Yamamoto, K., Nakai, Y. & Ogimoto, K. (1994b). Antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolated from swine. *Journal of Veterinary Medical Science* 56: 393-394.
- Ings, R.M.J. (1990). Interspecies scaling and comparisons in drug development and toxicokinetics. *Xenobiotica* 20: 1201-1231.
- Izumi, T., Enomoto, S., Hosiyama, K., Sasahara, K., Shibukawa, A., Nakagawa, T. & Sugiyama, Y. (1996). Prediction of the human pharmacokinetics of troglitazone, a new and extensively metabolized antidiabetic agent, after oral administration, with an animal scale-up approach. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 277: 1630-1641.
- Kawabe, K., Yamamoto, S., Kanazawa, T., Takimoto, G., Myamoto, A. & Ikeda, T. (1966). Basic studies on thiamphenicol, a new chemotherapeutic. *Chemotherapy* 14: 421-426.
- Keiser, G. (1974). Cooperative study of patients treated with thiamphenicol. Comparative study of patients treated with chloramphenicol and thiamphenicol. *Postgraduate Medical Journal* 50: 143-145.
- Keiser, G. & Buchegger, U. (1973). Hematological side effects of chloramphenicol and thiamphenicol. *Helvetica Medica Acta* 37: 265-279.
- Kitamura, T., Ando, J., Ishihara, R., Takano, S., Iijima, T., Nishimura, S., Yoshida, M., Takahashi, M. & Maekawa, A. (1997). Lack of carcinogenicity of thiamphenicol in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology* 35: 1075-1080.
- Lavé, T., Levet-Trafit, B., Schmitt-Hoffmann, A.H., Morgenroth, B., Richter, W. & Chou, R.C. (1995). Interspecies scaling of interferon disposition and comparison of allometric scaling with concentration-time transformation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 84: 1285-1290.

- Lavé, T., Portmann, R., Schenker, G., Gianni, A., Guenzi, A., Girometta, M.-A. & Schmitt, M. (1999). Interspecies pharmacokinetic comparisons and allometric scaling of napsagatran, a low molecular weight thrombin inhibitor. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51: 85-91.
- Lavy, E., Ziv, G., Glickman, A. & Ben-Zvi, Z. (1991). Single-dose pharmacokinetics of thiamphenicol in lactating goats. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum* 87: 99-102.
- Lin, J.H. (1995). Species similarities and differences in pharmacokinetics. *Drug Metabolism and Disposition* 23: 1008-1021.
- Mahmood, I. (1998a). Interspecies scaling: predicting volumes, mean residence time and elimination half-life. Some suggestions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 50: 493-499.
- Mahmood, I. (1998b). Interspecies scaling of renally secreted drugs. *Life Sciences* 63: 2365-2371.
- Mahmood, I. (1999). Prediction of clearance, volume of distribution and half-life by allometric scaling and by use of plasma concentrations predicted from pharmacokinetic constants: a comparative study. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51: 905-910.
- Mahmood, I. (2000). Can absolute bioavailability in humans be predicted from animals? A comparison of allometry and different indirect methods. *Drug Metabolism and Drug Interactions* 16: 143-155.
- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1996a). Interspecies scaling: predicting pharmacokinetic parameters of antiepileptic drugs in humans from animals with special emphasis on clearance. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 85: 411-414.
- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1996b). Interspecies scaling: predicting clearance of drugs in humans. Three different approaches. *Xenobiotica* 26: 887-895.
- Mahmood, I. & Yuan, R. (1999). A comparative study of allometric scaling with plasma concentrations predicted by species-invariant time methods. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 20: 137-144.
- Martindale (1993). *The Extra Pharmacopeia*. London: The Pharmaceutical Press.
- Martín-Jiménez, T. & Riviere, J.E. (1998). Population pharmacokinetics in veterinary medicine: potential use for therapeutic drug monitoring and prediction of tissue residues. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 21: 167-189.
- Martín-Jiménez, T. & Riviere, J.E. (2000). Mixed effect modelling applied to the interspecies scaling of gentamicin and oxytetracycline. En: *8th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT)*. ed. Soback, S. & McKellar, Q.A. Jerusalem. Israel.

- McChesney, E.W., Koss, R.F., Sherosky, J.M. & Deitz, W.H. (1960). Metabolism of dextrosulphenidol in several animal species. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 49: 762-766.
- Mellet, L.B. (1969). Comparative drug metabolism. *Progress in Drug Research* 13: 136-169.
- Mestorino, N., Landoni, M.F., Alt, M. & Errecalde, J.O. (1993). The pharmacokinetics of thiamphenicol in lactating cows. *Veterinary Research Communications* 17: 295-303.
- Meyer, L., Polak, B.C.P. & Shut, D. (1974). Blood dyscrasias attributed to chloramphenicol. A review of 641 published and unpublished cases. *Postgraduate Medical Journal* 50: 123-126.
- Millburn, P., Smith, R.L. & Williams, R.T. (1967). Biliary excretion of foreign compounds. Biphenyl, stilboestrol, and phenophtalein in the rat: molecular weight, polarity and metabolism as factors in biliary excretion. *Biochemical Journal* 105: 1275-1281.
- Mordenti, J. (1985a). Forecasting cephalosporin and monobactam antibiotic half-lives in humans from data collected in laboratory animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 27: 887-891.
- Mordenti, J. (1985b). Pharmacokinetics scale-up: accurate prediction of human pharmacokinetic profiles from animal data. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 74: 1097-1099.
- Mordenti, J. (1986a). Man versus beast: pharmacokinetic scaling in mammals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 75: 1028-1040.
- Mordenti, J. (1986b). Dosage regimen design for pharmaceutical studies conducted in animals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 75: 852-857.
- Moskovchenko, J., Monnier, J.C., Zech, P. & Traeger, J. (1971). Modifications apportées par l'insuffisance rénale aux laux plasmatiques de thiophénicol. *Lyon Médical* 225: 1103.
- Nakagawa, T., Masada, M. & Uno, T. (1975). Gas chromatographic determination and gas chromatographic-mass spectrometric analysis of chloramphenicol, thiamphenicol and their metabolites. *Journal of Chromatography* 111: 355-364.
- Neu, H.C. & Fu, K.P. (1980). In vitro activity of chloramphenicol and thiamphenicol analogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 18: 311-316.
- Øie, S. & Tozer, T.N. (1979). Effects of altered plasma protein binding on apparent volume of distribution. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 68: 1203-1205.
- Pahlman, I., Edholm, M., Kankaanranta, S. & Odell, M.-L. (1998). Pharmacokinetics of susalimod, a highly biliary-excreted sulphasalazine analogue, in various species: nonpredictable human clearance by allometric scaling. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49: 494-498.
- Paine, A.J. (1995). Heterogeneity of cytochrome P450 and its toxicological significance. *Human and Experimental Toxicology* 14: 1-7.

- Patel, B.A., Boudinot, F.D., Schinazi, R.F., Gallo, J.M. & Chu, C.K. (1990). Comparative pharmacokinetics and interspecies scaling of 3'-azido-3'-deoxy-thymidine (AZT) in several mammalian species. *Journal of Pharmacobio-Dynamics* 13: 206-211.
- Pedraz, J.L., Lanao, J.M. & Domínguez-Gil, A. (1988). Estudio alométrico de la farmacocinética de la ketamina. *Revista de Farmacología Clínica y Experimental* 5: 331-336.
- Pharsight, C. (1999). WinNonlin. Mountain View, California: Pharsight Corporation.
- Pilloud, M. (1982). Antibiotics and chemotherapeutics: from research to practice I. Remarks addressed to practitioners concerning chloramphenicol and thiamphenicol. *Schweiz Archives Tierheilk* 124: 121-131.
- Plomp, T.A., Maes, R.A.A. & Thiery, M. (1976). A rapid gas chromatographic determination of thiamphenicol in plasma and amniotic fluid. *Journal of Chromatography* 121: 243-250.
- Plomp, T.A., Mattelaer, J.J. & Maes, R.A.A. (1978). The concentration of thiamphenicol in seminal fluid and prostatic tissue. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 4: 65-71.
- Puigdemont, A., Ramis, J., Guitart, R. & Arboix, M. (1993). Species scaling of propafenone disposition and concentration-time relationships among eight mammalian species. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 82: 1126-1129.
- Quinitiliani JR, R. & Courvalin, P. (1995). Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. En: *Manual of Clinical Microbiology*. Ed. Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C. & Tenover, R.H. pp. 1308-1326. Washington D.C.: ASM Press.
- Renkin, E.M. & Gilmore, J.P. (1973). Glomerular filtration. En: *Handbook of Physiology-Renal Physiology*. Ed. Orlogg, J. & Berliner, R.W. pp. 185-248. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.
- Richter, W.F., Gallati, H. & Schiller, C.-D. (1999). Animal pharmacokinetics of the tumor necrosis factor receptor-immunoglobulin fusionprotein lenercept and their extrapolation to humans. *Drug Metabolism and Disposition* 27: 21-25.
- Riond, J.L. & Riviere, J.E. (1989). Doxycycline binding to plasma albumin of several species. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 12: 253-260.
- Riond, J.L. & Riviere, J.E. (1990). Allometric analysis of doxycycline pharmacokinetic parameters. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 13: 404-407.
- Riviere, J.E. (1999). *Comparative Pharmacokinetics. Principles, techniques and applications*. Ames, Iowa: Iowa State University Press.
- Riviere, J.E., Martín-Jiménez, T., Sundlof, S.F. & Craigmill, A.L. (1997). Interspecies allometric analysis of the comparative pharmacokinetics of 44 drugs across veterinary and laboratory animal species. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20: 453-463.
- Riviere, J.E., Sundlof, S.F. & Craigmill, A.L. (1991). *Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Antimicrobials*. Boca Raton: CRC Press.

- Rodrigues, A.D., Ferrero, J.L., Amann, M.T., Rotert, G.A., Ceba, S.P., Surber, B.W., Machinist, J.M., Tich, N.R., Sullivan, J.P., Garvey, D.S., Fitzgerald, M. & Arneric, S.P. (1994). The in vitro hepatic metabolism of AB-418, a cholinergic channel activator, in rats, dogs, cynomolgous monkeys and humans. *Drug Metabolism and Disposition* 22: 788-789.
- Rolain, J.M., Maurin, M., Vestris, G. & Raoult, D. (1998). In vitro susceptibilities of 27 rickettsiae to 13 antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42: 1537-1541.
- Sacher, G.A. (1959). Relationship of lifespan to brain weight and body weight in mammals. *Ciba Foundation Colloquium on Aging* 5: 115-133.
- Sanwald-Ducray, P. & Dow, J. (1997). Prediction of the pharmacokinetic parameters of reduced-dolasetron in man using in vitro-in vivo and interspecies allometric scaling. *Xenobiotica* 27: 189-201.
- Sawada, Y., Hanano, M., Sugiyama, Y., Harashima, H. & Iga, T. (1984). Prediction of the volumes of distribution of basic drugs in humans based on data from animals. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 12: 587-596.
- Schmidt-Nielsen, K. (1970). Energy metabolism, body size, and problems of scaling. *Federation Proceedings* 29: 1524-1532.
- Scott, J.L., Finegold, S.M., Belkin, G.A. & Lawrence, J.S. (1965). A controlled double-blind study of the hematological toxicity of chloramphenicol. *The New England Journal of Medicine* 272: 1137-1142.
- Shargel, L. & Yu, A.B.C. (1999). *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*. Stamford, Connecticut: Appleton and Lange.
- Signorini, G.C., Ferrari, A., Ballarini, G., Bonanomi, L. & Mondellini, A. (1986). Livelli plasmatici ed escrezione mammaria del tiamfenicolo nel bovino. *Documenti Veterinari* 11: 61-63.
- Signorini, G.C., Quintavalla, F., Scarduelli, E., Longo, A. & Gabrielli, M. (1991). Plasma thiamphenicol concentrations in calves after intratracheal administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 14.
- Skolimowski, I.M., Knight, R.C. & Edwards, D.I. (1983). Molecular basis of chloramphenicol and thiamphenicol toxicity to DNA in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 12: 535-542.
- Stahl, W.R. (1965). Organ weights in primates and other mammals. *Science* 150: 1039-1042.
- Stahl, W.R. (1967). Scaling of respiratory variables in mammals. *Journal of Applied Physiology* 22: 453-460.
- Stevens, J.C., Shipley, L.A., Cashman, J.R., Vandenbranden, M. & Wrighton, S.A. (1993). Comparison of human and rhesus monkey in vitro phase I and phase II hepatic drug metabolism activities. *Drug Metabolism and Disposition* 21: 753-760.
- Sundlof, S.F., Riviere, J.E. & Craigmill, A.L. (1996). *Handbook of Comparative Veterinary Pharmacokinetics and Residues of Pesticides and Environmental Contaminants*. Boca Raton: CRC Press.

- Swabb, E.A. & Bonner, D.P. (1983). Prediction of aztreonam pharmacokinetics in human based on data from animals. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 11: 215-223.
- Syriopoulou, V.P., Harding, A.L., Goldmann, D.A. & Smith, A.L. (1981). In vitro antibacterial activity of fluorinated analogs of chloramphenicol and thiamphenicol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 19: 294-297.
- Tacquet, A., Cuvelier, D., Devulder, B. & Legros, J. (1974). Pharmacokinetic aspects of thiamphenicol in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency, with or without haemodialysis. *Postgraduate Medical Journal* 50: 36-38.
- Takamizawa, I. (1984). The effects of chloramphenicol and thiamphenicol on the peripheral blood and bone marrow in normal rabbits. *Journal of Tokyo Medical College* 42: 741-753.
- The Merck Index. (1983). USA
- Tomoeda, M. & Yamamoto, K. (1981). The hematologic adverse reaction experience with thiamphenicol in Japan. En: *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy*. Ed. Najean, Y., Tognoni, G. & Yunis, A.A. pp. 103-110. New York: Raven Press.
- Uesugi, T., Ikeda, M., Hori, R., Katayama, K. & Arita, T. (1974a). Metabolism of thiamphenicol and comparative studies of its urinary and biliary excretion with chloramphenicol in various species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 22: 2714-2722.
- Uesugi, T., Ikeda, M., Kanei, Y., Hori, R. & Arita, T. (1974b). Studies on the biliary excretion mechanisms of drugs. II. Biliary excretion of thiamphenicol, chloramphenicol and their glucuronides in the rat. *Biochemical Pharmacology* 23: 2315-2321.
- Vademecum Internacional (1995). Madrid: Medicom S.A.
- Varma, K.J., Adams, P.E., Powers, T.E., Powers, J.D. & Lamendola, J.F. (1986). Pharmacokinetics of florfenicol in veal calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 9: 412-425.
- Veterindustria (1997). Guía de productos zoosanitarios. Barcelona: Pulso Ediciones S.A.
- Ward, K.W., Azzarano, L.M., Bondinell, W.E., Cousins, R.D., Huffman, W.F., Jakas, D.R., Keenan, R.M., Ku, T.W., Lundberg, D., Miller, W.H., Mumaw, J.A., Newlander, K.A., Pirhalla, J.L., Roethke, T.J., Salyers, K.L., Souder, P.R., Stelman, G.J. & Smith, B.R. (1999). Preclinical pharmacokinetics and interspecies scaling of a novel vitronectin receptor antagonist. *Drug Metabolism and Disposition* 27: 1232-1241.
- Wei, M., Sziegoleit, W. & Förster, W. (1977). Dependence of pharmacokinetic parameters on the body weight. *International Journal of Clinical Pharmacology* 15: 572-575.
- Yamaoka, K., Nakagawa, T. & Uno, T. (1978). Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 6: 164-175.

- Yoshimura, H., Kojima, A. & Ishimaru, M. (2000). Antimicrobial susceptibility of *Arcanobacterium pyogenes* isolated from cattle and pigs. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 47: 139-143.
- Yunis, A.A. (1981). Chloramphenicol toxicity and the role of the p-NO₂ in aplastic anemia. En *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy*. Ed. Najean, Y., Tognoni, G. & Yunis, A.A. pp. 17-29. New York: Raven Press.
- Yunis, A.A. (1981). Comparative toxicity of chloramphenicol and thiamphenicol with particular reference to aplastic anaemia. *Chemioterapia Antimicrobica* 1: 52-58.
- Yunis, A.A. (1984). Differential in-vitro toxicity of chloramphenicol, nitroso-chloramphenicol, and thiamphenicol. *Sexually Transmitted Diseases* 11: 340-342.