

**Estudio de la farmacocinética de la buprenorfina tras la administración intravenosa y transdérmica.**

**Determinación de la eficacia analgésica de la buprenorfina administrada subcutánea y transdérmicamente en perras ovariectomizadas.**



**TESIS DOCTORAL**

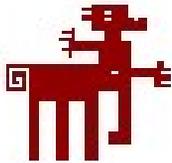
**JAVIER MOLL SÁNCHEZ**



**Universitat Autònoma de Barcelona**

**ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE LA BUPRENORFINA TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA Y TRANSDÉRMICA EN LA ESPECIE CANINA.**

**DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA ANALGÉSICA DE LA BUPRENORFINA ADMINISTRADA SUBCUTÁNEA Y TRANSDÉRMICAMENTE EN PERRAS OVARIOHISTERECTOMIZADAS**



**Departament de Medicina i Cirurgia Animals  
Facultat de Veterinària**

**Memoria presentada por Javier Moll Sánchez  
para optar al grado de Doctor en Veterinaria**

*Foto de la cubierta: Imagen del postoperatorio de una perra tras una ovariectomía*

**Félix García Arnas**, Catedrático del Departament de Medicina i Cirurgia Animals, de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona.

**Anna Andaluz Martínez**, Profesora Ayudante del Departament de Medicina i Cirurgia Animals, de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona,

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada « ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE LA BUPRENORFINA TRAS LA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA Y TRANSDÉRMICA EN LA ESPECIE CANINA. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA ANALGÉSICA DE LA BUPRENORFINA ADMINISTRADA SUBCUTÁNEA Y TRANSDÉRMICAMENTE EN PERRAS OVARIO-HISTERECTOMIZADAS» presentada por **Javier Moll Sánchez** para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección y, considerándola finalizada, autoriza su presentación para que ésta sea juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firmamos el presente certificado.

Bellaterra, 23 de Enero de 2008

Félix García Arnas

Anna Andaluz Martínez

Edifici V-Campus UAB / 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès) / Barcelona, Spain

Telf: +34 93 581 10 91 – Fax: +34 93 581 20 06

d.med.cirurgia.animal@uab.es

www.uab.es

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincera gratitud a todas aquellas personas que mediante su apoyo y amistad han hecho posible la realización de este estudio:

Al Dr. Félix García, co-director de mi tesis, por su ayuda y dedicación durante la realización de este trabajo, por su confianza a lo largo de estos años.

A la Dra. Anna Andaluz, co-directora de mi tesis, por su ayuda y dedicación durante la realización de este trabajo, y sobretodo por su paciencia y amistad demostrada durante estos años.

A la Dra. Rosa Ventura, la Dra. Rosario Abellán y al personal del IMIM (Institut Municipal d'Investigació Mèdica), por sus consejos y su colaboración durante la realización de los estudios farmacocinéticos de la buprenorfina.

Al Dr. David Prandi y al Dr. Rafael Ruiz de Gopegui, por sus consejos y ayuda demostrada a lo largo de este trabajo.

A mis compañeras de equipo: Otilia Bambo, Anna Morist y especialmente Laura Fresno y Asiul Chacaltana, por su gran ayuda desinteresada, su apoyo, su colaboración en la fase experimental de este estudio, y lo más importante, su amistad.

A todos mis compañeros/as de despacho y, por supuesto, buenos/as amigos/as. En especial a mis amigas Carolina Naranjo, Andrea Carvalho y Lola Torres, embarcadas en sus tesis y residencias. Por sus consejos, apoyo y por la alegría que tienen ante la vida.

A Carmen Núñez, del Hospital Clínic Veterinari, por su paciencia y su amabilidad en toda ocasión.

A todos los internos del Hospital Clínic Veterinari, por su disposición y colaboración en todo momento, y por su compañía durante las largas noches que pasamos juntos.

A todos los propietarios de los animales que se han incluido en este trabajo, especialmente a Gertru y Jose María, ya que sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

A mis padres, Agustina y Jose, a mi hermano Jose, a mis tíos Carmen y Manolo, y a mis primos Alexis, Silvia y Jordi. Por su cariño, su confianza, su apoyo incondicional y sus preocupaciones por ver finalizada la tesis.

A mi “novia” Andrea, que con solo dos añitos me alegra el corazón nada mas verla y sobretodo cuando dice “amos vavi”.

A mis abuelos Joaquina y Vicente, Carmen y Paco, a mi primo Manolo y a mi amigo Jordi, gracias por haber compartido parte de nuestras vidas.

A todos mis amigos/as que me han ayudado y apoyado sin dudarlos. Especialmente a Bea y Juan, a Begoña y a Montse, desde que nos conocimos estudiando Enfermería hemos tenido una relación de gran amistad y confianza.

A todos ellos, muchas gracias.

<b>1- INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>2- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
<b>2.1. Dolor. Generalidades</b>	<b>17</b>
<b>2.1.1. Definición y clasificación</b>	<b>17</b>
<b>2.1.2. Fisiología del dolor</b>	<b>18</b>
<b>2.1.3. Estrés y dolor</b>	<b>24</b>
<b>2.1.4. ¿Por qué aliviar el dolor?</b>	<b>26</b>
<b>2.1.5. Métodos de evaluación del dolor en los animales</b>	<b>28</b>
<b>a. Generalidades</b>	<b>28</b>
<b>b. Escalas subjetivas o semiobjetivas</b>	<b>29</b>
<b>c. Escalas comportamentales</b>	<b>33</b>
<b>2.2. Fármacos para el control del dolor</b>	<b>36</b>
<b>2.2.1. Fármacos no opioides</b>	<b>37</b>
<b>a. Antiinflamatorios no esteroideos</b>	<b>37</b>
<b>b. Anestésicos locales</b>	<b>38</b>
<b>c. <math>\alpha</math>-2 Agonistas</b>	<b>39</b>
<b>d. Otros fármacos: ketamina, tramadol</b>	<b>40</b>
<b>2.2.2. Opioides</b>	<b>41</b>
<b>a. Opiáceos agonistas puros</b>	<b>45</b>
<b>b. Opiáceos agonistas-antagonistas</b>	<b>47</b>
<b>c. Opiáceos antagonistas</b>	<b>47</b>
<b>2.3. Vías de administración</b>	<b>49</b>
<b>2.3.1. Generalidades</b>	<b>49</b>
<b>2.3.2. Administración intravenosa</b>	<b>51</b>
<b>2.3.3. Administración transdérmica</b>	<b>52</b>
<b>a. Estructura de la piel y sus anejos</b>	<b>53</b>
<b>b. Mecanismos de absorción</b>	<b>56</b>
<b>c. Factores que afectan la absorción cutánea</b>	<b>58</b>
<b>d. Sistemas desarrollados para la absorción transdérmica: Parches</b>	<b>61</b>
<b>e. Utilización parches en veterinaria</b>	<b>64</b>
<b>2.4. Buprenorfina</b>	<b>65</b>
<b>2.4.1. Características generales</b>	<b>65</b>
<b>2.4.2. Efectos adversos</b>	<b>69</b>
<b>2.4.3. Farmacocinética de la buprenorfina</b>	<b>72</b>
<b>a. Absorción</b>	<b>75</b>
<b>b. Distribución</b>	<b>76</b>
<b>c. Metabolismo</b>	<b>76</b>
<b>d. Eliminación</b>	<b>78</b>

2.4.4. Vías de administración	79
a. Administración parenteral	79
b. Administración transdérmica	79
<b>3- OBJETIVOS</b>	<b>83</b>
<b>4- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>87</b>
4.1. Validación del método de detección	89
4.1.1. Calibración y control	89
4.1.2. Resultados	90
4.2. Farmacocinética de un bolo intravenoso de buprenorfina	91
4.2.1. Material y métodos	91
4.2.2. Resultados	94
4.2.3. Discusión	97
4.3. Determinación de las concentraciones plasmáticas de buprenorfina tras la aplicación de un sistema de absorción transdérmica, con una liberación de 70 µg/h	101
4.3.1. Material y métodos	101
4.3.2. Resultados	102
4.3.3. Discusión	104
4.4. Determinación de la eficacia analgésica de la buprenorfina administrada subcutánea y transdérmicamente en perras ovariectomizadas	108
4.4.1. Material y métodos	108
4.4.2. Resultados	112
4.4.3. Discusión	118
<b>5- CONCLUSIONES</b>	<b>125</b>
<b>6- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>129</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

El reconocimiento del dolor en las distintas especies animales, así como las estrategias terapéuticas para el tratamiento de dicho dolor han constituido, especialmente durante la última década, una de las líneas de estudio más importantes en medicina veterinaria. Podemos decir que el control del dolor en nuestros animales ha pasado de ser algo innecesario, e incluso contraindicado, a convertirse en una de las principales preocupaciones para los veterinarios. Actualmente, el reconocimiento y alivio del dolor no sólo juega un papel importante en la veterinaria clínica de pequeños animales sino que también lo es en términos de bienestar animal.

Hasta hace muy pocos años el reconocimiento y tratamiento del dolor en veterinaria tenía muy poco interés. El dolor y sus mecanismos eran difíciles de entender y de cuantificar, por lo que históricamente resultaba más fácil ignorar su tratamiento. También se creía que el empleo de opioides y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) tenía unos efectos secundarios significativos. En realidad, estos efectos no deseados aparecían como consecuencia de un uso inadecuado del fármaco, creándose un círculo vicioso y un mayor rechazo a la utilización de analgésicos.

Actualmente se tiene un mejor conocimiento sobre la naturaleza del dolor y se ha tomado consciencia de las implicaciones que dicho dolor puede provocar. El dolor incontrolado provoca estrés, prolonga el tiempo de recuperación y hospitalización, dificulta

el proceso de cicatrización, puede provocar automutilaciones, es causa de hipoxia/hipercapnia, incrementa el catabolismo celular, produce sensibilización neuronal, en definitiva, aumenta la morbimortalidad de los pacientes. Así, debería reconocerse como correcta actuación de los profesionales; el examen, la prevención y el tratamiento del dolor.

No obstante, el reconocimiento y tratamiento del dolor en medicina veterinaria resulta insuficiente, solo el 50% de los perros y gatos recibían analgesia tras una ovariectomía, y solo el 23% de los pequeños mamíferos tras una cirugía mayor (Flecknell, 2000).

Aunque en ocasiones se atribuye esta falta de tratamiento a la dificultad de conseguir fármacos opioides (muchos países tienen una legislación restrictiva para la obtención, almacenaje y administración de opioides que complica la administración de analgésicos en los animales), la mayor parte de los casos se debe al desconocimiento o dificultad para evaluar ese dolor. Así, en cirugías y procedimientos dolorosos muchos animales pueden estar incorrectamente tratados, dificultando el postoperatorio y/o su recuperación.

Uno de los grupos de fármacos analgésicos sometidos a un gran número de ensayos han sido los opioides. Estos fármacos han sido ampliamente estudiados en medicina humana, tanto a nivel farmacocinético como farmacodinámico en sus distintas

presentaciones (Elkader y Sproule, 2005; Meert y Vermeirsch, 2005; Donaher y Welsh, 2006). A pesar de ello, en medicina veterinaria los estudios para valorar la farmacocinética/dinamia de los opioides son escasos y la posología de estos analgésicos mayoritariamente se basa en experiencias clínicas y/o extrapolaciones de medicina humana.

La buprenorfina es un derivado sintético de la morfina muy utilizado en medicina veterinaria para el tratamiento del dolor leve o moderado (Joubert, 2001; Robertson *et al.*, 2005). Existen diversas presentaciones y administraciones de la buprenorfina (inyectables, soluciones orales y dispositivos transdérmicos) que muestran efectividad para el tratamiento del dolor agudo o crónico en personas y animales.

En general las formulaciones de los fármacos existentes en el mercado están diseñadas para el uso en medicina humana. Un ejemplo lo encontramos en los sistemas de administración transdérmica. Estas formulaciones consisten en unos apósitos o parches que se adhieren a la piel liberando paulatinamente su contenido y proporcionando una serie de ventajas al paciente. En medicina humana se utilizan para el tratamiento sistémico de diferentes patologías; parches para el tratamiento de los síntomas de la menopausia, para el tratamiento de ciertas enfermedades cardíacas, o los más conocidos, los parches para la deshabituación al tabaco.

Los opioides usados en la administración transdérmica son el fentanilo y la buprenorfina. Estos parches se han desarrollado para el tratamiento del dolor crónico o de origen neoplásico y debido a las características de la administración transdérmica, el uso de estos ha sido bien aceptado por los pacientes y sus cuidadores.

La administración de fármacos vía transdérmica en veterinaria se ha utilizado para el tratamiento de enfermedades cutáneas o como tratamiento de desparasitación. No obstante, tras la aparición de los parches de fentanilo, esta formulación ha sido probada en la especie canina y felina, demostrando capacidad para absorberse vía transcutánea junto a un efecto analgésico (Egger *et al.* 1998; Lee *et al.*, 2000; Welch *et al.*, 2002). En los últimos años la utilización de los parches de fentanilo ha ido generalizándose, entre otras razones porque evita la administración seriada de analgésicos y disminuyen el posible estrés inducido por la manipulación del animal, proporcionando una buena aceptación por parte de los propietarios.

Pocos estudios se han realizado para valorar la farmacocinética y farmacodinamia de la buprenorfina en sus diferentes presentaciones en pequeños animales, principalmente el perro y el gato (Garrett y Chandran, 1990; Taylor *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 2005; Slingsby, 2006). En los estudios realizados se demuestra una efectividad analgésica, tras la administración

intravenosa, subcutánea, intramuscular y transmucosa oral, esta última en el gato (Taylor, 1999, Robertson *et al.*, 2005; Murrell *et al.*, 2007).

No obstante, la farmacocinética de un bolo intravenoso a dosis terapéuticas y de la administración transdérmica de buprenorfina en la especie canina no ha sido estudiada, hasta ahora.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 2.1. DOLOR. GENERALIDADES.

### 2.1.1. Definición y clasificación

En 1900, Sherrington fue el primero en definir el dolor como una función física cuya finalidad era la retirada de los tejidos de un foco dañino (Lamont *et al.*, 2000). En esta definición sólo se expresaba el dolor como un reflejo protector ante una lesión.

Según la Real Academia de la Lengua Española, es aquella sensación molesta y aflictiva de una parte del cuerpo por causa interior o exterior (RAE, 2006).

La definición más precisa es la realizada por la *Internacional Association for the Study of Pain* (IASP) [Hellebrekers (a), 2000]. Según esta asociación, el dolor se puede definir como aquella experiencia desagradable, emocional o sensitiva, asociada a una lesión de los tejidos, potencial o actual, descrita en términos de daño o lesión.

#### *Clasificación del dolor*

Existen distintas clasificaciones del dolor en función de:

- la causa: trauma, artritis, pancreatitis...
- el origen embriológico: superficial, visceral o profundo.
- la anatomía: visceral o somático.
- el sistema: neurológico, músculo-esquelético, gastrointestinal...
- el tiempo: transitorio, agudo o crónico.
- la intensidad: leve, moderado, severo.

Aunque todos estos métodos son descriptivos, ninguno de ellos identifica los mecanismos responsables del dolor. El mejor enfoque para categorizar el dolor y entender su evolución es diferenciar entre dolor fisiológico y patológico [Lamont *et al.*, 2000; Muir (a), 2002].

*Dolor fisiológico.* Se produce cuando un estímulo provoca una mínima lesión tisular capaz de activar las fibras nerviosas para proteger al organismo de una lesión. El dolor fisiológico juega un rol importante para la defensa del organismo, ya que avisa del peligro ante un estímulo o signo dañino e inicia las estrategias para evitarlo. Dentro de los componentes del dolor fisiológico se encuentra el término nocicepción. La nocicepción hace referencia al reconocimiento de los signos, por parte del sistema nervioso, originados en los receptores sensoriales (nociceptores) proporcionando la información relacionada con el tejido lesionado. La nocicepción es la detección de un estímulo nocivo y la transmisión de la información hacia el cerebro. En veterinaria, como los animales no pueden expresarse con palabras, es mejor hablar de nocicepción y no de dolor [Hellebrekers (a), 2000].

*Dolor patológico.* Se produce cuando el estímulo provoca un daño tisular creando una sensación desagradable y una sensibilidad anormal al ser suficientemente intenso o durante un amplio periodo de tiempo. No obstante, también puede ocurrir en ausencia de estímulos [Muir (a), 2002].

El dolor patológico puede manifestarse de diferentes formas (Lamont *et al.*, 2000):

*Causalgia*: aparición de dolor espontáneo; puede ser sordo, punzante o quemante.

*Hiperalgia*: dolor exagerado ante un estímulo nocivo de baja intensidad.

*Alodinia*: dolor producido por un estímulo normalmente no nocivo.

La forma aguda de dolor (fisiológico o patológico) tiene un rol de adaptación y protección, pues sirve para facilitar la reparación y cicatrización de los tejidos. Se consigue mediante una hipersensibilización del área lesionada (hiperalgesia primaria) y de los tejidos circundantes (hiperalgesia secundaria).

La forma crónica (duración superior a 3-6 meses) no tiene ninguna función biológica o ventaja en la supervivencia del animal, y se produce por una mala adaptación.

### 2.1.2. Fisiología del dolor

La nocicepción consiste en el proceso fisiológico a partir del cual se produce la transducción, transmisión, modulación y percepción del estímulo doloroso (Lamont *et al.*, 2000; Muir y Woolf, 2001). La nocicepción es un proceso fisiológico cuyo resultado, cuando se han completado todos los pasos, es la percepción consciente del dolor.

El primer proceso de la nocicepción es la transducción. Consiste en la transformación de la energía física en

actividad eléctrica por parte de terminaciones nerviosas específicas denominadas nociceptores. Los nociceptores codifican la intensidad, duración, localización y calidad del estímulo doloroso. Dependiendo del tipo de estímulo (mecánico, térmico o químico) se activará uno u otro receptor. Una vez activado el nociceptor, transducirá el estímulo nocivo en potenciales eléctricos para ser transmitidos hacia la médula espinal.

La transmisión consiste en la propagación de los impulsos nerviosos a través del sistema nervioso. En su forma más simple en este proceso intervienen como mínimo tres neuronas, una se origina en el tejido periférico y finaliza en la médula espinal, otra asciende en la médula espinal y la tercera neurona se proyecta en el cerebro hasta el córtex (Fig.1).

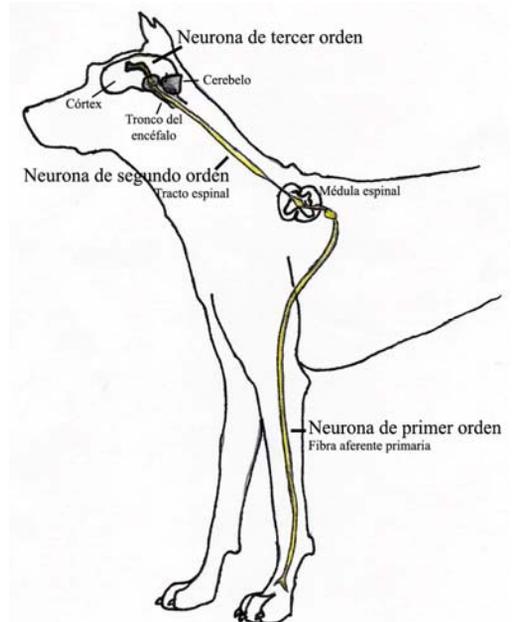


Fig.1. Esquema de las vías de transmisión del estímulo doloroso.

El estímulo doloroso puede transmitirse a través de dos tipos de fibras aferentes:

\* *Fibras A delta (A $\delta$ )*: son de pequeño diámetro, mielinizadas y con una elevada velocidad de conducción (5 – 30 m/s). Llevan información de baja y alta intensidad. El 75% de las fibras llevan información de baja intensidad (no dolorosa) (Muir (a), 2002). Están asociadas al dolor agudo y punzante. Responden ante estímulos mecánicos y térmicos. Son responsables de la transmisión del “primer dolor”.

\* *Fibras C*: son de pequeño tamaño, no mielinizadas y con una velocidad de conducción menor (0,5 – 2 m/s). Aproximadamente del 10-15% de las fibras llevan estímulos de baja intensidad [Muir (a), 2002]. Responden ante estímulos mecánicos, térmicos y químicos (por ejemplo, mediadores de la inflamación). Están asociadas al dolor sordo, difuso y de larga duración. Son responsables de la transmisión del “segundo dolor”, que se produce cuando el estímulo tiene la suficiente magnitud para activar las fibras C.

Además de estos dos tipos de fibras, también se encuentran las fibras A beta (A $\beta$ ). Son fibras grandes, mielinizadas y responden a estímulos de baja intensidad. Normalmente envían información no dolorosa (tacto, vibración, presión...) a una velocidad muy elevada (30 – 70 m/s) (Muir y Wolf, 2001).

Tanto las fibras A $\delta$ , como las fibras C, se distribuyen por la piel, el peritoneo, la pleura, el periostio, la zona ósea subcondral, las cápsulas articulares, los vasos sanguíneos, los músculos, los tendones, las fascias y las vísceras, aunque su distribución varía según la especie y la localización anatómica (Lamont *et al.*, 2000).

Ambas fibras se localizan en la raíz dorsal de los ganglios nerviosos y juntas entran en la médula espinal para realizar la sinapsis con las neuronas de las astas dorsales de la sustancia gris de la médula. En el asta dorsal de la sustancia gris, las diferentes células forman distintas columnas que contienen un gran número de interneuronas (excitatorias e inhibitorias). A este nivel las columnas reciben múltiples “inputs” de diferentes neuronas y envían “outputs” hacia el cerebro o al asta ventral de la sustancia gris. La mayoría de las fibras A $\delta$  terminan en la capa más superficial o lámina I, aunque algunas fibras se proyectan en la lámina IV (Fig.2). La mayoría de las fibras C terminan en la lámina II (Lamont *et al.*, 2000).

De forma directa o indirecta, los axones de las fibras A $\delta$  y C conectan con 3 poblaciones de neuronas en el asta dorsal de la médula [Muir (a), 2002]:

1. Interneuronas excitadoras o inhibitorias.
2. Motoneuronas, responsables del reflejo de retirada ante un estímulo doloroso.

3. Neuronas de proyección, que se dirigen hacia los centros supraespinales por varios tractos ascendentes hasta llegar al cerebro. El tracto más importante en la transmisión del dolor es el espinotalámico, aunque también los tractos espinomesencefálico, espinoreticular y espinocervical están involucrados en la transmisión ascendente del estímulo doloroso.

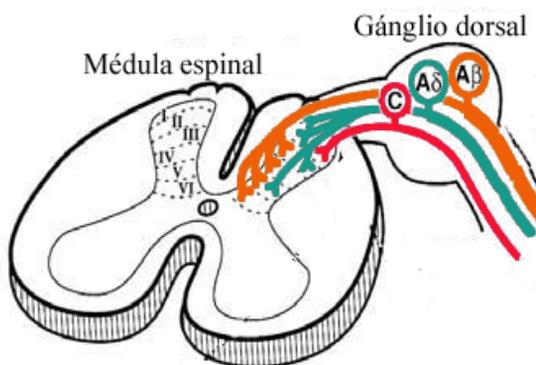


Fig.2. Localización de las terminaciones nerviosas en el asta dorsal de la sustancia gris de la médula.

La modulación es el proceso a partir del cual se va a modificar, ampliando o disminuyendo, la transmisión nociceptiva. Esta se produce tanto en la médula espinal como cerebral. Una multitud de neurotransmisores son los responsables de transferir la información entre las neuronas operando en diferentes receptores, entre ellos, pueden activar a los N-metil-D-aspartato (NMDA) o a los receptores ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) e inhibir a los receptores GABA (ácido gamma

aminobutírico). De los diferentes neurotransmisores, la sustancia P, el aspartato, el glutamato y los derivados prostaglandínicos van a producir una estimulación y/o ampliación del estímulo. El GABA, los opiáceos, la serotonina y la adenosina inducen una inhibición y/o reducción del estímulo.

La modulación es un proceso complejo, en el cual se encuentran los fenómenos de sensibilización periférica y central.

La *sensibilización periférica* (Fig.3) se produce por alteraciones neuroquímicas causadas si tras el primer estímulo la lesión inicial se mantiene. En ella, estímulos de baja intensidad inducen dolor por una sensibilización de las fibras nerviosas (hiperalgesia primaria) (Lamont *et al.*, 2000).

La liberación de contenido del tejido dañado ( $H^+$ ,  $K^+$ , ATP, proteasas, COX-2...) junto a las sustancias liberadas por las células inflamatorias (serotonina, histamina, bradicininas, prostaglandinas, citoquinas y factores de crecimiento) van a aumentar la actividad de las terminaciones nerviosas y la sensibilización de los nociceptores que responden a estímulos de alta intensidad (Fibras A $\delta$  y C). La activación de las fibras A $\delta$  y C ante pequeños estímulos incrementará la nocicepción o hipersensibilización primaria. A parte de estos cambios, existe una subpoblación de terminaciones nerviosas, una clase de fibras C no mielinizadas trasmisoras de información no dolorosa y denominadas nociceptores "silentes", que se activan y

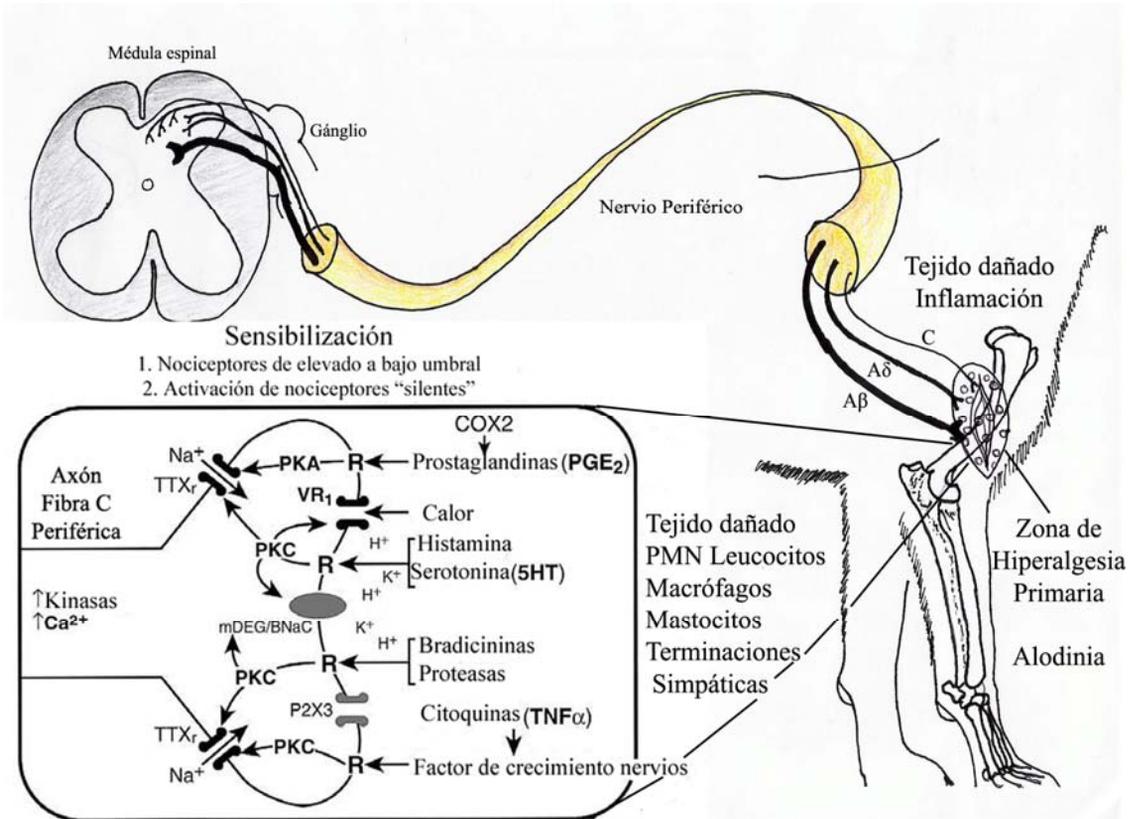


Fig.3. Esquema de las estructuras y procesos involucrados en la sensibilización periférica. R = receptor; PKC = Proein kinasa C; PKA = Protein kinasa A; H<sup>+</sup> = Hidrogeniones; K<sup>+</sup> = Ión potasio; Na<sup>+</sup> = Ión sodio; Ca<sup>2+</sup> = Ión calcio; TNF<sub>α</sub> = Factor de necrosis tumoral.

transmiten estímulos dolorosos ante los efectos de las moléculas liberadas en la inflamación, potenciando la hipersensibilización. También, las proteasas, la sustancia P y otras moléculas liberadas en la zona lesionada, inducirán una vasodilatación y extravasación de fluidos y proteínas capaces de amplificar la respuesta inflamatoria, contribuyendo a extender la hipersensibilización a las fibras A $\delta$  y C más próximas a la zona lesionada (Muir y Wolf, 2001).

La *sensibilización central* (Fig.4) se produce básicamente en la médula espinal. En ella hay un cambio en la

excitabilidad de las neuronas de la médula espinal y/o una activación de las células de la glía.

Cuando un estímulo dura más tiempo que el input inicial [más de 20 segundos (Lamont *et al.*, 2000)] se produce una suma de potenciales de acción aumentando progresivamente en intensidad y duración. El estímulo excitatorio, normalmente, es transmitido por las fibras A $\delta$  y C mediante el glutamato. Este se une a los receptores AMPA/KAI de las neuronas del asta dorsal de la médula para transmitir la información a vías superiores (este impulso puede ser inhibido por

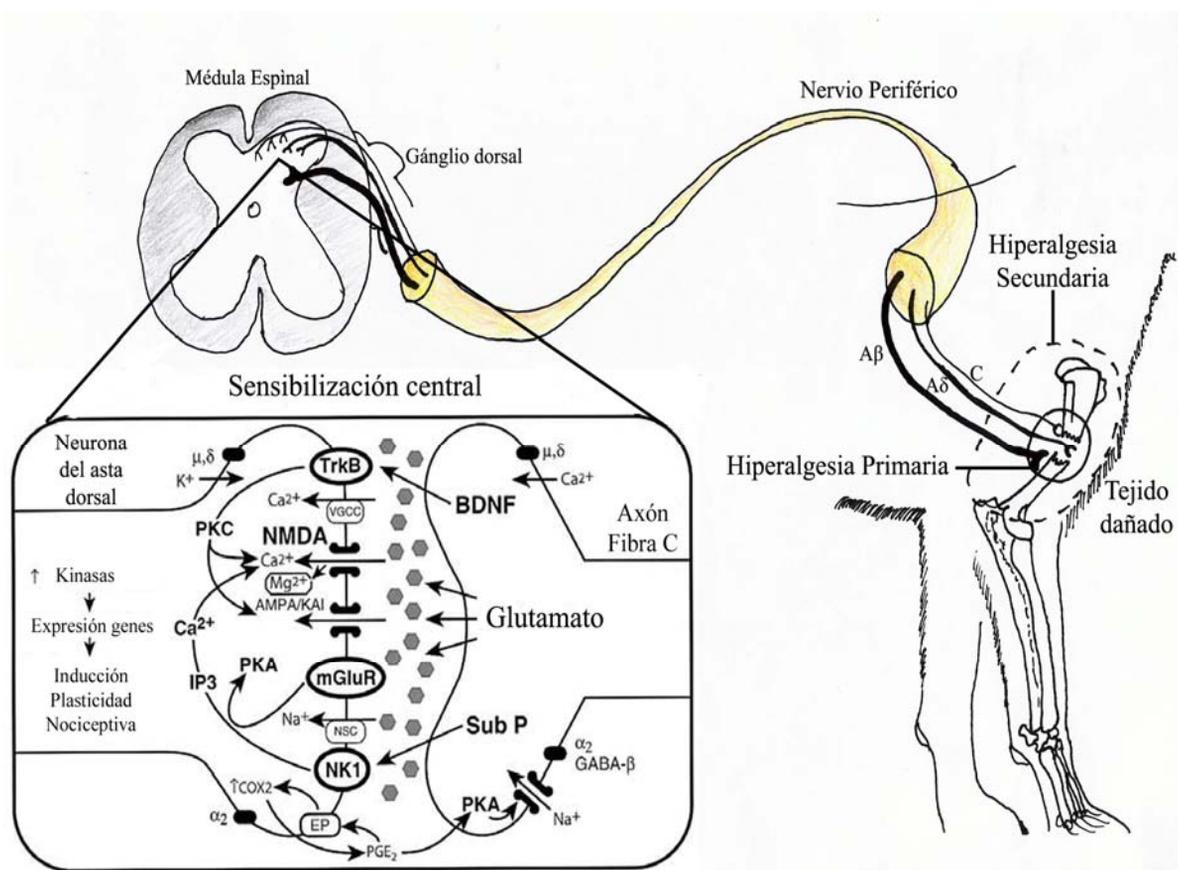


Fig.4. Esquema de las estructuras y procesos involucrados en la sensibilización central. BDNF= Factor neurotrófico derivado del cerebro; Sub P= Sustancia P; IP3= Trifosfato de inositol; COX2= Ciclooxygenasa 2; EP= Receptor de prostanoides.

neuronas inhibitorias mediante neurotransmisores GABA). En la sensibilización central, el aumento de intensidad y duración del estímulo permitirá la activación de los receptores NMDA de todas las terminaciones nerviosas, por parte del glutamato y de las taquikinas, produciendo una sensibilización del asta dorsal; así la activación de las fibras A $\beta$  (neuronas que transmiten información de baja intensidad o no dolorosa) con estímulos de baja intensidad contribuirá en la respuesta al dolor, pues estímulos inicialmente no dolorosos ahora se

transmiten como dolor (Muir y Wolf, 2001).

La sensibilización central incrementa el área de respuesta dolorosa ante estímulos de baja intensidad, así estímulos no nociceptivos en el área más cercana a la lesión serán transmitidos como dolor (hiperalgesia secundaria).

La diferencia entre sensibilidad periférica y central es que en la primera, estímulos de baja intensidad inducen nocicepción por una sensibilización de

las fibras A $\delta$  y C, y la segunda permite a neuronas de umbral bajo (A $\beta$ ) y estímulos de baja intensidad inducir nocicepción por un aumento de la excitabilidad y por alteraciones en el proceso sensorial en la médula espinal.

Las implicaciones clínicas más importantes derivadas de estos acontecimientos son [Muir (a), 2002]:

1. Una vez se ha producido el dolor, es mucho más difícil lograr un adecuado control del mismo con el uso de los analgésicos habituales.
2. El dolor es percibido por el animal como de mayor intensidad y puede responder de forma mucho más violenta a la esperada.

La percepción se produce en el cerebro y consiste en la integración, procesado y reconocimiento de la información sensorial; haciendo consciente, subjetiva y emocional la nocicepción [Muir (a), 2002].

La información somática sensorial llega a la formación reticular del mesencéfalo y alrededor del núcleo por diversas vías (tracto espinotalámico, espinoreticular y espinomesencefálico) antes de converger en el tálamo. En él es donde se integra y transmite la información hacia el córtex para hacerla consciente.

En el encéfalo, también se produce una modulación del estímulo doloroso; desde los centros superiores del cerebro, principalmente la sustancia gris periacueductal (mesencéfalo) y la sustancia gris periventricular (hipotálamo), parten vías descendentes inhibitorias capaces

de modular la actividad en la médula espinal. La estimulación de estas regiones, anatómicamente conectadas entre sí, activa las vías inhibitorias del estímulo nociceptivo del asta dorsal de la médula espinal mediante diferentes sustancias como los opioides endógenos, el GABA y la serotonina [Muir (a), 2002].

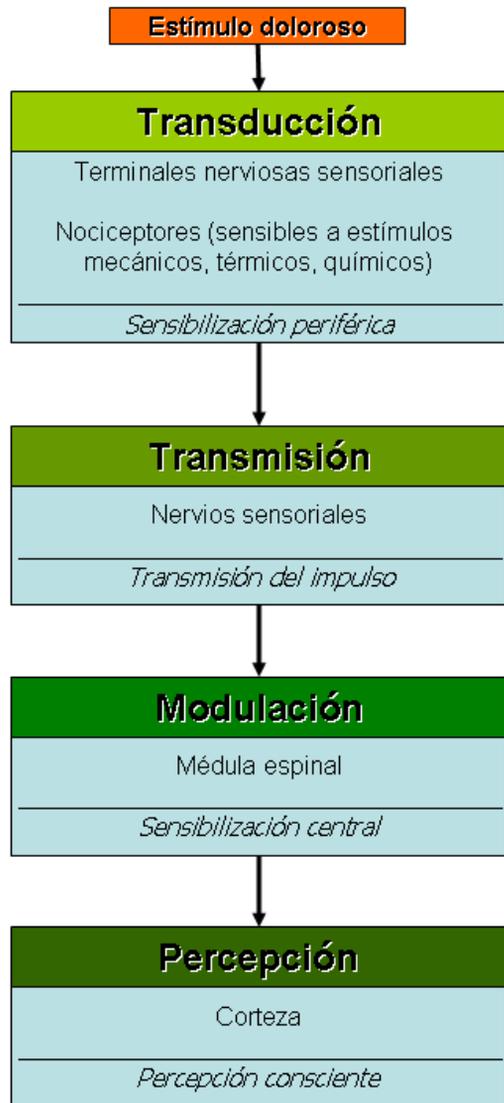


Fig.5. Procesos fisiológicos de la nocicepción.

### 2.1.3. Estrés y dolor

Si retornamos a la definición de dolor descrita por el IASP, a parte del componente fisiopatológico, hay una proporción subjetiva y esencial de la sensación del dolor compuesta por un componente afectivo o emocional, que en los animales todavía resulta más complicado de clasificar. El fenómeno de dolor siempre debe verse en relación directa con las sensaciones de miedo y estrés, pues en la práctica si a un animal se le añade un acontecimiento doloroso al miedo y/o estrés, sentirá dolor mucho antes y con una intensidad mucho mayor que un animal sin miedo.

El estrés es una respuesta biológica de un animal ante un factor físico, químico o emocional que le suponga una amenaza. Si el animal no lo percibe como amenaza, no aparece el estrés. Esta respuesta provoca una adaptación, cuya principal función es mantener la homeostasis. Cuando la respuesta es inefectiva y causa una tensión fisiológica, puede aparecer el distrés, la enfermedad y/o la muerte [Muir (b), 2002].

Cuando el estrés es severo o dura un periodo de tiempo largo, se alterará la homeostasis del animal por una respuesta neuronal y endocrina secundaria a una mala adaptación. Los estímulos activan el locus ceruleus, el tálamo y la amígdala, enviando la información al córtex cerebral para dar las respuestas “adaptativas”. Cuando el estrés afecta negativamente a las funciones críticas del animal y representa un elevado coste biológico,

se produce un distrés, pudiendo causar dolor y/o sufrimiento, siendo el sufrimiento una percepción o sentimiento negativo por no poder impedir la destrucción o el daño [Muir (b), 2002].

El estrés produce unos cambios en la función cerebral que se correlacionan con modificaciones conductuales (del nivel de alerta, de aprendizaje y memoria), neuroendocrinos e inmunológicos. Si la nocicepción es una respuesta de estrés ante un estímulo o lesión, los cambios producidos por estrés también los podrá hacer el dolor.

Los principales cambios o respuestas son [Muir (b), 2002]:

a) *Comportamentales*: el estímulo doloroso induce un incremento de los niveles del factor de liberación de corticotropinas cerebrales liberando al torrente sanguíneo norepinefrina, dopamina y 5-hidroxitriptamina. Todos estos mediadores inducirán una serie de cambios comportamentales correlacionados con la severidad del dolor del animal.

Los principales signos comportamentales descritos en los perros y gatos están representados en la figura 6.

b) *Neuroendocrinos*: el estrés, y por lo tanto el dolor, produce una activación del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal, responsable del aumento o descenso de diferentes hormonas (Fig.7). Como

consecuencia se producirá un aumento del catabolismo, una movilización de sustratos para conseguir energía para reparar el tejido dañado y una retención de sales y agua para mantener el volumen y la homeostasis cardiovascular.

c) *Vegetativos simpáticos*: el incremento de la actividad del sistema nervioso simpático (SNS) es uno de los principales efectos de una respuesta de estrés; resultado de la activación del hipotálamo. La activación del SNS iniciará la liberación de epinefrina, nor-epinefrina, cortisol, aldosterona y renina de las glándulas adrenales a la circulación sanguínea. Todo ello va a dar lugar a la aparición de taquicardia, taquipnea, hiper-

tensión, retención de agua y sales, piloerección y midriasis.

d) *Inmunológicos*: el sistema inmunitario puede ser activado o deprimido por el estrés, así la nocicepción también va a modular la respuesta inmunitaria del animal o persona. Dependiendo de la intensidad y duración del dolor puede haber depresión o estimulación del sistema inmunitario. Por ejemplo: el dolor crónico provoca inmunosupresión humoral y celular, sin embargo el dolor moderado asociado a una lesión traumática puede activar la respuesta inmune.

Normalmente ante un estrés severo la respuesta del sistema inmunitario suele producir un

Respuesta al dolor	Perro	Gato
Vocalización	<b>Gemidos, quejidos, gruñidos</b>	<b>Gemidos, gruñidos</b>
Expresión facial	<b>Mirada fija, apariencia vidriosa</b>	<b>Frente arrugada, estrabismo</b>
Postura	<b>Protege la herida Inquieto con movimientos restringidos</b>	<b>Protege la herida Movimientos restringidos o estereotipados</b>
Estado mental	<b>Agresividad, desconfianza, miedo o timidez</b>	<b>Intenta esconderse o se muestra agresivo</b>
Apetito	<b>Disminuido</b>	<b>Disminuido</b>
Micción / defecación	<b>Micciones aumentadas o retención urinaria</b>	<b>No usa la caja de tierra</b>
Aspecto externo (dolor crónico)	<b>Pérdida de brillo en la capa de pelo</b>	<b>No se acicala</b>
Respuesta a la palpación	<b>Protección, mordedura, vocalización, retirarse, orientarse</b>	<b>Protección, mordedura, araña, vocaliza, retirarse; tendencia a escapar</b>

Fig.6. Signos del dolor. Respuestas comportamentales del perro y el gato al dolor.

Hormona	Cambio	Efecto
<b>ACTH</b>	Incremento	Estimulación córtex adrenal
<b>Cortisol</b>	Incremento	Gluconeogenesis, ↑ lipólisis y proteólisis, facilita los efectos de las catecolaminas y produce acción antiinflamatoria
<b>Catecolaminas</b>	Incremento	↑ Frecuencia cardíaca, respiratoria y presión arterial Glicogenolisis, gluconeogenesis, ↓ síntesis insulina, ↑ resistencia a la insulina, lipólisis
<b>Glucagón e insulina</b>	Incremento y descenso	Glicogenolisis, gluconeogenesis, glucosuria y glucosemia
<b>H. Crecimiento</b>	Incremento	↑ síntesis proteínas, lipólisis y efectos antiinsulinémicos
<b>H. Tiroideas</b>	Incremento	↑ metabolismo carbohidratos y producción de calor
<b>Vasopresina</b>	Incremento	Retención de agua y sales. Aumento del volumen sanguíneo, mejora la homeostasis vascular

Fig.7. Respuesta hormonal al dolor.

aumento de citoquinas, activa la respuesta de fase aguda y aparece un leucograma de estrés (neutrofilia y linfopenia).

Además de estas acciones directas, el dolor también va a producir una liberación de opioides endógenos (endorfinas, encefalinas...) capaces de contribuir en la inmunosupresión.

#### 2.1.4. ¿Por qué aliviar el dolor?

Uno de los aspectos importantes del sentir ético del ser humano reside en evitar el sufrimiento innecesario a los animales reflejado en la Directiva Europea del Consejo del 24 de noviembre de 1986 respecto a la protección de los animales utilizados

para la experimentación y otros fines científicos (86/609/CEE) D.O.C.E. 18.12.86 (Nº L358/1 a Nº L358/28), y en el Real Decreto 1201/2005, de 10 de Octubre de 2005, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (B.O.E. nº 252, 21 de octubre de 2005, Págs. 34367-34391). En estas directrices se determina "... siempre que sea compatible con los fines del procedimiento, cuando se prevea que un animal va a sufrir dolor intenso o prolongado después de haberse recuperado de la anestesia, se dispondrá de lo necesario para que sea tratado con la antelación suficiente, con medios adecuados para minimizar el dolor, o, cuando esto no sea posible, deberá ser sacrificado inmediatamente por métodos humanitarios...".

Lo que es válido para animales de ensayo también lo ha de ser para los demás animales que se encuentran al cuidado de las personas. Así pues, tanto para el ganado, animales de parques zoológicos y reservas, o en los animales de propiedad privada, debe aplicarse dicho mandato ético y, según las prescripciones legales, concederles un alivio adecuado del dolor en caso de necesidad. Por tanto, el tratamiento del dolor es un deber ético del veterinario.

Además de los motivos éticos, existen también un gran número de razones fisiopatológicas justificantes para convertir en una medida obligatoria el alivio del dolor; con éste se inician una serie de efectos negativos responsables de prolongar y complicar la convalecencia, con un aumento de la morbilidad en patologías crónicas que puede afectar negativamente a la capacidad del animal para hacer frente a la enfermedad. Por ejemplo, cuando se produce un estímulo doloroso durante un periodo prolongado de tiempo, pueden aparecer estados de shock con colapso (bradicardia, hipotensión) y coagulación intravascular diseminada.

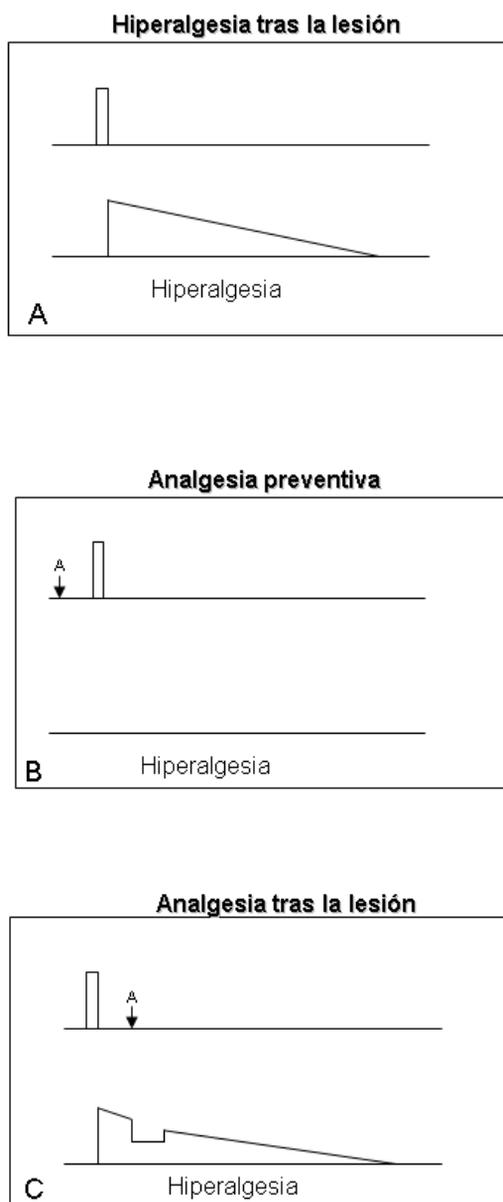
Debido a las alteraciones del sistema inmunitario en animales con dolor se observa un empeoramiento de la curación de las heridas, un aumento de la tendencia a infecciones y posiblemente un incremento del crecimiento de tumores y de la tendencia a formar metástasis, incrementando la morbilidad y mortalidad (Henke y Erhardt, 2004).

Un síntoma importante del dolor a tener en cuenta es la inapetencia. Los animales con dolor tienden a rehusar la ingestión de comida ya sea de forma directa, como de forma indirecta a la disminución de la motilidad intestinal por la estimulación del SNS. Ello va a lentificar la recuperación, ya que en una fase donde se necesita un gran aporte energético disminuyen los nutrientes necesarios.

Teniendo en cuenta los mecanismos de la nocicepción descritos anteriormente, es mejor prevenir el dolor que tratarlo, ya que es más difícil tratar el dolor una vez el animal o la persona es consciente de él.

La administración de analgésicos durante el preoperatorio va a tener efectos beneficiosos durante la anestesia, permitiendo la disminución de las dosis de los diferentes fármacos utilizados durante la inducción y el mantenimiento anestésico, disminuyendo la aparición de sus efectos secundarios. Además, la administración de analgésicos antes de producirse el dolor inhibirá los procesos de sensibilización periférica y central (Fig.8) (Lamont *et al.*, 2000).

Finalmente, los propietarios cada vez son más conscientes que sus animales pueden tener dolor durante el postoperatorio y piden que no sufran ni experimenten dolor durante esta fase.



**Fig.8. Modelo simple que relaciona un único tratamiento analgésico y la hiperalgnesia.** (A) Un estímulo doloroso desencadena una respuesta de sensibilización central y consecuentemente se produce una hiperalgnesia. (B) La analgesia antes del estímulo previene la aparición de la hiperalgnesia. (C) La analgesia postestímulo tiene un menor efecto para disminuir la hiperalgnesia (Lamont et al., 2000).

## 2.1.5. Métodos para reconocer el dolor en los animales

### a. Generalidades

Determinar el grado de dolor en los animales es difícil ya que no se pueden expresar con palabras. Habitualmente, la administración de analgésicos, sobretodo durante el postoperatorio, se realiza cuando el veterinario tiene la percepción que el animal tiene dolor y normalmente considerando el grado de dolor del animal mucho menor del real. Así, solo un 50% de las perras sometidas a una ovariectomía reciben analgesia (Flecknell, 2000).

Una de las complicaciones para evaluar el dolor es la falta de un criterio para valorar todos los tipos de dolor: agudo, crónico, superficial, profundo, neuropático... Esta característica junto al hecho que muchos veterinarios tienden a ignorar la presencia de dolor, condena a nuestros pacientes a sufrir innecesariamente. Debido a la necesidad de reconocer el dolor en los animales, en las últimas décadas se han ido desarrollando diferentes metodologías, principalmente extrapoladas de medicina humana, para detectar el grado de dolor en los animales. Estos métodos son eficaces para la especie canina, debiendo realizar adaptaciones para las otras especies.

Otro factor limitante en el uso de las escalas, es el hecho que todos los métodos actualmente descritos son muy subjetivos y pueden inducir a errores de sobre o subestimación del dolor. En el caso de tener diferentes observadores

debemos tener en cuenta la variabilidad de resultados entre estos (Holton *et al.*, 2001).

Los objetivos y las características principales de las escalas de dolor actuales son [Muir (b), 2002]:

1. Reconocer y determinar el grado de dolor de un animal, aceptando las limitaciones de estas escalas.
2. Evaluar el dolor postquirúrgico y/o traumático en la especie canina y felina, aceptando la dificultad de las escalas para reconocer el dolor crónico, el dolor agudo de origen no quirúrgico (pancreatitis, pleuritis...) y el dolor de origen neoplásico.
3. Asegurar que el animal se encuentre confortable durante el postoperatorio, tratándolo individualmente.
4. Permitir evaluaciones periódicas, cada 4-6 horas, para valorar el dolor y el grado de confort del animal.
5. Permitir valorar la evolución y efectividad del protocolo analgésico instaurado.

Las diferentes escalas actuales pueden clasificarse en dos grandes grupos:

- escalas subjetivas o semiobjetivas para el dolor agudo quirúrgico y/o traumático.
- escalas comportamentales para el dolor agudo quirúrgico y/o traumático.

## **b. Escalas subjetivas o semiobjetivas**

Las escalas subjetivas o semiobjetivas para valorar el dolor agudo, quirúrgico y/o traumático, principalmente son:

- b.1 Sistema de valoración preventiva.
- b.2 Escala visual analógica.
- b.3 Escala descriptiva simple.
- b.4 Escala numérica.

### *b.1. Sistema de valoración preventiva o "Preemptive Scoring System" (PSS)*

El PSS es un sistema subjetivo donde se asigna un grado de dolor según el procedimiento quirúrgico a que será sometido el animal (Tabla 1). En general, a mayor trauma quirúrgico mayor grado de dolor (Hellyer, 2002).

Permite realizar una planificación analgésica preoperatoria, por ejemplo ante un acto quirúrgico que represente un dolor grave (hemilaminectomía...) se utilizarán diferentes analgésicos y técnicas para controlar el dolor.

El PSS no tiene en cuenta las respuestas individuales de los animales ante el dolor y no es útil para evaluar el dolor del animal, ya que se basa en predicciones.

Sedación (Dolor Molesto)	Cirugía Menor (Dolor Medio)	Cirugía Moderada (Dolor Moderado)	Cirugía Mayor (Dolor Grave)
Radiografía	Desbridamiento de herida	Cataratas	Ureterostomía perineal
Distensión de vejiga	Cateterización uretral	Cistotomía	Reducción quirúrgica de fracturas
Cateterización IV	Endoscopia con biopsia	Ulceración corneal	Pancreatitis
Retirar puntos	Orquidectomía	Cesárea	Amputación del miembro torácico o lumbar
Vendajes	Limpieza/extracción dental	Ovariohisterectomía	Enucleación / Evisceración
Laceraciones superficiales	Extracción de abscesos	Colocación fijadores externos	Maxilectomía
Reparación de otopneumatomas por punción	Nodullectomía	Mastectomía	Laminectomía
	Extracción cuerpos extraños	Fractura estabilizada de radio/cúbito o tibia/peroné	Ablación conducto auditivo
		Laparotomía craneal	Toracotomía

Tabla 1. Ejemplo de sistema de valoración preventiva (PSS).

### b.2 Escala visual analógica o “Visual Analog Scale” (VAS)

La VAS es una escala semiobjetiva donde se traza una línea horizontal de 100 mm de longitud, realizando marcas en los extremos con descripciones de la intensidad del dolor (no dolor, el peor dolor posible) (Fig.9). El paciente o el observador hacen una señal en la línea según su dolor o el dolor apreciado, siendo la distancia entre el primer extremo y la señal el valor del dolor.



Fig.9. Escala visual analógica (VAS) utilizada en animales. La escala debe realizarse con una línea de 100 mm. (Hellyer, 2002).

Esta escala es muy utilizada en medicina humana y existen distintos trabajos donde se ha aplicado en medicina veterinaria [Welsh et al, 1993; Holton *et al.* (a), 1998; Mathews, 2000; Caulkett *et al.*, 2003; Hielm-Björkman *et al.*, 2003; Slingsby *et al.*, 2006].

Las principales ventajas de esta escala son su facilidad de manejo y una mayor sensibilidad en la determinación del dolor en los valores situados alrededor de los extremos y la zona central (Welsh *et al.*, 1993).

Sin embargo, es una escala poco sensible para valorar el dolor en las 6 primeras horas del postoperatorio porque los efectos de la anestesia interferirán en los resultados; puede

sobrevalorar los resultados [Holton *et al.* (a), 1998] y necesita observadores entrenados con una amplia experiencia para identificar e interpretar correctamente las conductas de dolor (Hellyer, 2002).

*b.3. Escala descriptiva simple o “Simple Descriptive Scale” (SDS)*

La SDS es una escala semiobjetiva donde se asignan un valor numérico a diferentes intensidades de dolor, normalmente cuatro o cinco (Fig.10) (Hellyer, 2002).

A diferencia de la PSS, la SDS fija un valor tras la observación del animal (no es una predicción).

Puntuación	Criterio
<b>1</b>	<b>Sin dolor</b>
<b>2</b>	<b>Dolor leve</b>
<b>3</b>	<b>Dolor moderado</b>
<b>4</b>	<b>Dolor grave</b>

Fig.10. Ejemplo de escala descriptiva simple o SDS (Hellyer, 2002).

La SDS es una escala fácil de utilizar, no obstante, su sensibilidad es baja al no permitir detectar pequeñas variaciones de dolor y los resultados pueden, fácilmente, ser sub. o sobreestimados [Holton *et al.*(a), 1998].

*b.4. Escala numérica o “Numerical Rating Scale” (NRS)*

La NRS también es una escala semiobjetiva donde el paciente o el

observador asignan un número, del 0 al 10 ó del 0 al 100, según la intensidad del dolor. También pueden asignarse una puntuación a conductas clasificadas en diferentes categorías simplificadas (Fig.11) (Hellyer, 2002).

A diferencia de las escalas anteriores, la NRS permite valorar ciertos aspectos concretos categorizando y facilitando la utilización de este tipo de escala. A pesar de ello, no se establece una graduación de importancia entre las diferentes categorías, permitiendo la posibilidad de obtener resultados alterados. La NRS con escala numérica simple permite una mejor tabulación y análisis de los resultados (Hellyer, 2002).

La NRS es una metodología sencilla, de fácil manejo y con menor posibilidad de infravalorar o sobrevalorar el dolor comparado con la escala SDS o la VAS en el perro y gato [Holton *et al.* (a), 1998]. No obstante, comparado con la escala VAS posee una menor capacidad para detectar pequeños cambios de dolor [Holton *et al.* (a), 1998].

Un factor a considerar en la metodología utilizada para valorar el grado de dolor en los animales es la variabilidad producida entre diferentes observadores en cada método. Holton *et al.* (a) (1998) obtuvo una variabilidad significativa de resultados con diferentes observadores utilizando SDS, NRS y VAS durante el postoperatorio de perros intervenidos quirúrgicamente, aunque en la conclusión de este estudio, se consideró a la NRS como la más indicada para valorar el dolor en perros.

Categoría	Puntuación	Criterio
<i>Confort</i>	0	Dormido o calmado
	1	Despierto
	2	Poco agitado
	3	Moderadamente agitado
	4	Muy agitado
<i>Movimiento</i>	0	Movimientos normales
	1	Cambia frecuentemente de posición
	2	Movimientos continuos y/o anormales
<i>Apariencia</i>	0	Normal
	1	Cambios leves: ojos parcialmente cerrados, orejas caídas
	2	Cambios moderados: ojos hundidos, apariencia descuidada
	3	Cambios graves: ojos pálidos, expresiones faciales anormales, posiciones antiálgidas...
<i>Conducta</i>	0	Normal
	1	Cambios mínimos
	2	Moderadamente anormal: menos alerta y/o móvil, inquieto
	3	Marcadamente anormales: muy inquieto, vocalizaciones, autolesiones...
<i>Interacción</i>	0	Normal
	1	Se aleja al palpar la herida
	2	Vocaliza al palpar la herida
	3	Reacción violenta al palpar la herida
<i>Vocalización</i>	0	Callado
	1	Llora, pero se calma ante una voz tranquilizadora
	2	Vocaliza intermitentemente y no se calma
	3	Vocalización continua
<i>Frec. card.</i>	0	0-15% sobre el valor prequirúrgico
	1	16-29% sobre el valor prequirúrgico
	2	30-45% sobre el valor prequirúrgico
	3	> 45% sobre el valor prequirúrgico
<i>Frec. Resp.</i>	0	0-15% sobre el valor prequirúrgico
	1	16-29% sobre el valor prequirúrgico
	2	30-45% sobre el valor prequirúrgico
	3	> 45% sobre el valor prequirúrgico

Fig. 11. Ejemplo de escala NRS utilizada en perros y gatos por el "Colorado State University Veterinary Teaching Hospital" (Hellyer, 2002).

### c. Escalas comportamentales

El principal problema de las escalas subjetivas es su escasa sensibilidad y la simplicidad de sus categorías, siendo difícil discernir entre conductas de dolor y alteraciones conductuales ocasionadas por la anestesia, ansiedad, miedo o secundarias a la administración de analgésicos opiáceos como la morfina (Mathews, 2000). Para intentar evitar la aparición de estos problemas se han diseñado las escalas comportamentales. Las principales escalas desarrolladas en veterinaria son:

- c.1. Escala de respuestas fisiológicas y comportamentales.
- c.2. Escala de respuestas comportamentales.

#### *c.1. Escala de respuestas fisiológicas y comportamentales, o escala de dolor de la Universidad de Melbourne (UMPS)*

La UMPS es una escala que valora respuestas fisiológicas y comportamentales nociceptivas a través de seis categorías relacionadas con el dolor (Tabla 2) (Firth y Haldane, 1999). Cada categoría contiene varias descripciones con un valor numérico. El observador examina cada descripción y debe decidir cual es la más apropiada a la conducta del animal. Los valores de cada categoría se añaden para conseguir una puntuación total. Esta se encontrará entre un valor mínimo de 0 puntos y uno máximo de 27 puntos.

Dentro de las categorías, las descripciones son agrupadas para

escoger una de ellas y registrar su correspondiente calificación. No obstante, para realizar la evaluación del estado mental, el observador deberá comparar la actual conducta del animal con su valor basal (antes de la intervención dolorosa), anotando la diferencia de puntuación obtenida entre estos dos valores; por ejemplo, un animal antes de la intervención quirúrgica es amigable (1 punto) y al realizar la observación está agresivo (3 puntos) deberá anotarse en la casilla de estado mental un 2 (3 - 1) (Firth y Haldane, 1999).

La principal ventaja de la UMPS respecto a las escalas subjetivas es una mayor precisión al otorgar un peso superior a ciertas conductas o parámetros respecto a otras. Al evaluar múltiples factores incrementa la sensibilidad y especificidad de la escala, principalmente cambios en la conducta del animal. La UMPS concede más importancia a observaciones comportamentales, de este modo limita las interpretaciones y vías observadas, y mejora la sensibilidad (Hellyer, 2002).

Sin embargo, la UMPS limita la validación de sus resultados; porque no detecta pequeñas variaciones nociceptivas, especialmente si las observaciones se realizan esporádicamente, y porque el diseño fue realizado para evaluar la nocicepción en perros después de una cirugía. Así, en gatos y otras especies la escala UMPS debería sufrir modificaciones en concordancia al comportamiento de dichas especies. Otro inconveniente de la escala UMPS, aunque de menor

importancia, es la necesidad de averiguar la conducta habitual del animal antes de la anestesia y/o cirugía, incluso debería conocerse la conducta antes del ingreso del animal en el hospital o instalaciones, porque suele alterarse cuando se encuentran fuera del ambiente familiar (Holton *et al.*, 2001; Hellyer, 2002).

*c.2. Escala de respuestas comportamentales o escala compuesta de Glasgow*

La escala del dolor de Glasgow se basa en unos signos comportamentales representantes de la nocicepción en el perro. En ella se valoran las siguientes categorías: postura, actividad, vocalización, atención a la herida, conducta, movilidad y respuesta al tacto. Para cada categoría se utilizan

diferentes descripciones a través de palabras específicas o frases cortas, representativas de los más importantes signos de dolor tras realizar unos cuestionarios a 79 veterinarios. El observador marcará, para cada categoría, la o las descripciones más características de la conducta del animal. Estas descripciones fueron validadas mediante tres tipos de pruebas estadísticas (Holton *et al.*, 2001).

Como sucede con la UMPS, la escala de Glasgow tiene una mayor precisión que los métodos subjetivos al valorar conductas específicamente definidas, pero al no poseer una valoración numérica para poder comparar y realizar estudios estadísticos y al carecer de estudios comparativos con otras escalas, su utilización actualmente es limitada (Hellyer, 2002).

Categoría	Descripción	Puntuación
<i>Variables fisiológicas</i>		
Escoger una posibilidad	Valores fisiológicos dentro del rango de la normalidad	0
	Midriasis	2
Escoger una posibilidad	Incremento porcentual de la FC respecto a la preoperatoria	
	>20%	1
	>50%	2
	>100%	3
Escoger una posibilidad	Incremento porcentual de la FR respecto a la preoperatoria	
	>20%	1
	>50%	2
	>100%	3
Escoger una posibilidad	Temperatura rectal superior a la preoperatoria	1
	Salivación	2
<i>Respuesta a la palpación</i>		
Escoger una posibilidad	No hay cambio respecto al comportamiento preoperatorio	0
	Reacciona al palpar la herida	2
	Reacciona antes de palpar la herida	3
<i>Actividad</i>		
Escoger una posibilidad	Descansa-duerme	0
	- semiinconsciente	0
	- despierto	1
	Inquieto (pasea continuamente, se levanta y se tumba)	2
	Se tambalea, marcha en círculos	3
<i>Estado mental</i>		
Escoger una posibilidad	Sumiso	0
	Amigable	1
	Desconfiado	2
	Agresivo	3
<i>Postura</i>		
Escoger una posibilidad	Decúbito lateral	0
	Decúbito esternal	1
	Se mueve	1
	Sentado o de pie con cabeza erguida	1
	Sentado o de pie con cabeza baja	2
	Protege la herida, zona afectada (incluye la posición fetal)	2
	Postura anormal (Ej. rezo, lomo encorvado)	2
<i>Vocalización</i>		
Escoger una posibilidad	No vocaliza	0
	Vocaliza al tocarlo	2
	Vocaliza intermitentemente	2
	Vocalización continua	3

Tabla.2. Escala del dolor de la Universidad de Melbourne (UMPS) (Firth y Haldane, 1999).

## 2.2. FÁRMACOS PARA EL CONTROL DEL DOLOR

El objetivo de la analgesia es evitar el sufrimiento del animal y mejorar el confort de este.

Conseguir un ambiente tranquilo, con una temperatura estable e idónea, realizar las manipulaciones del animal con cuidado y utilizar medidas conservadoras como vendajes, disminuyen el estrés del animal y consecuentemente la sensación de dolor. No obstante, es lógico pensar que estas medidas no puedan eliminar los estados álgidos graves y agudos. De este modo, para poder conseguir una analgesia fiable debe recurrirse a un tratamiento farmacológico (Henke y Erhardt, 2004).

A parte de estas medidas, en los últimos años se están desarrollando y utilizando una serie de terapias no farmacológicas y de complemento al tratamiento farmacológico, como la acupuntura, la electroacupuntura, la estimulación eléctrica transcutánea o la terapia con láser, para el tratamiento del dolor crónico en animales, principalmente en el caballo y la especie canina (Skarda, 2002).

### *Analgesia farmacológica*

La analgesia farmacológica se subdivide en tres ámbitos principales: alivio del dolor preoperatorio, alivio del dolor intraoperatorio y el alivio del dolor postoperatorio.

El tratamiento farmacológico lo podemos realizar actuando en cualquiera de los cuatro puntos por donde discurre el estímulo doloroso hasta hacerse consciente (Fig.12); incluso se pueden utilizar diferentes fármacos para inhibir el proceso nociceptivo en diversos puntos; es la denominada analgesia polimodal.

Para ello los analgésicos destinados al uso en animales deben poseer determinadas propiedades (Henke y Erhardt, 2004):

- alivio fiable y eficaz del dolor.
- efecto lo menos sedante posible.
- efecto depresor respiratorio mínimo.
- buena tolerancia (sin vómitos, diarreas...).
- posibilidad de administración parenteral en fases iniciales.
- posibilidad de administración oral en el mantenimiento (sin sabor, buena tolerancia gástrica).
- efecto a largo plazo (grandes intervalos de administración).

Los analgésicos utilizados pueden clasificarse en:

1. Fármacos no opioides:
  - a. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).
  - b. Anestésicos locales.
  - c.  $\alpha$ -2 Agonistas.
  - d. Otros fármacos: ketamina, tramadol...
2. Opioides.

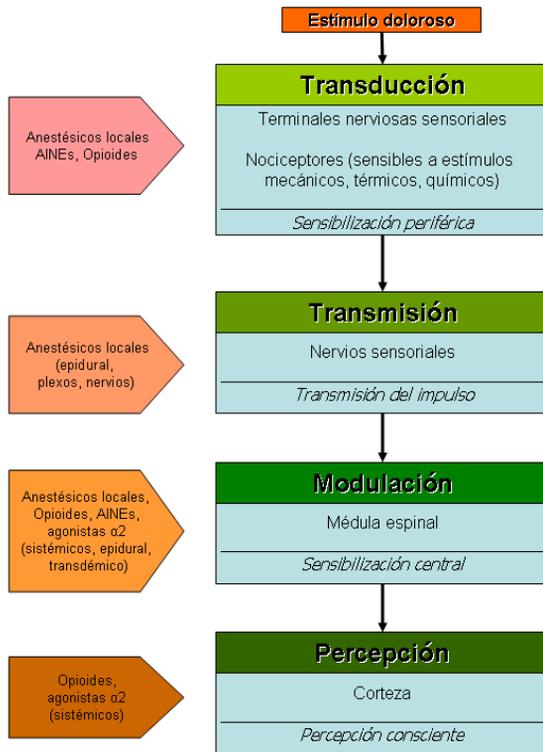


Fig.12. Bases neurológicas del dolor y vías de actuación de los diferentes fármacos.

## 2.2.1. Fármacos no opioides

### a. Antiinflamatorios no esteroideos

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) funcionan como analgésicos, antiinflamatorios y antipiréticos. Aunque químicamente son compuestos relacionados, sus estructuras varían ampliamente y su clasificación basada en la estructura química genera controversia. Bioquímicamente se pueden unificar a

los AINEs como fármacos inhibidores de la enzima ciclooxigenasa (COX).

Son fármacos muy empleados en medicina humana. Su uso en medicina veterinaria ha incrementado notablemente durante la última década debido, principalmente, a dos razones; el aumento en la demanda de un mejor cuidado del dolor crónico y agudo, y segundo porque ha mejorado la eficacia y seguridad de los AINEs.

Los AINEs se caracterizan por poseer distintas propiedades farmacológicas:

*Efecto antipirético.* El mecanismo antipirético de los AINEs está relacionado a la inhibición en la producción de prostaglandinas en el hipotálamo (Rang *et al.*, 1999).

*Efecto analgésico.* Los AINEs son efectivos contra el dolor asociado a procesos inflamatorios o lesión tisular, al disminuir la producción de prostaglandinas (Rang *et al.*, 1999).

*Efecto antiinflamatorio.* El efecto antiinflamatorio de los AINEs es debido a su acción inhibitoria sobre la COX-2 (Ricketts *et al.*, 1998).

Los principales efectos adversos de los AINEs recaen sobre el sistema gastrointestinal, al disminuir la citoprotección de la mucosa gástrica por inhibición de la síntesis de prostaglandinas (PG); hepático (idiosincrásico); renal, sobretodo en casos de hipovolemia o hipotensión la inhibición de las PG producirá un descenso en la perfusión renal; y en la

hemostasia primaria por reducción de la agregación plaquetar.

Debido a estos efectos adversos, los AINEs deben usarse en pacientes bien hidratados, normotensos y normovolémicos. En perros y gatos suelen utilizarse cuando la función renal es normal, no tienen problemas de hemostasia, ni alteraciones gastro-intestinales. No es recomendable administrar conjuntamente corticosteroides.

Teniendo en cuenta las características farmacológicas de los AINEs, estos pueden emplearse para:

1. Tratamiento del dolor post-operatorio de tejidos blandos y de traumatología.
2. Combinarlos con opioides y conseguir una analgesia balanceada.
3. Tratamiento del dolor crónico.

Los AINEs más utilizados en medicina veterinaria son el ácido tolfenámico, el carprofeno, el ketoprofeno y el meloxicam. Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 3.

### b. Anestésicos locales

Los anestésicos locales o regionales ejercen su acción en la recepción de un estímulo doloroso o en la transmisión nerviosa de este, impidiendo que llegue al Sistema Nervioso Central (SNC). Como resultado del bloqueo del sistema nervioso autónomo (SNA) se produce analgesia y parálisis muscular.

Los anestésicos locales inhiben la formación y propagación del impulso nervioso, al bloquear los canales de sodio de la membrana del nervio. Se unen a estos induciéndoles cambios en su conformación e impidiendo su apertura. Todo ello provoca una

AINE	Perro	Gato	Caballo	Cerdo	Oveja	Roedores	Conejo
<i>Ac. tolfenámico</i>	4 VO, SC c/ 24 h 2-3 d	4 VO, SC c/ 24 h 2-3 d	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Carprofeno</i>	2.2-4.4 VO, SC c/12 h	1-2 VO, SC Dosis única	0.7 VO c/ 24 h 4-9 d	2-4 SC, IV c/ 24 h	1.5-2 SC, IV c/24	5 VO, SC c/ 24 h	4 SC c/ 24 h 1.6 VO c/ 12 h
<i>Ketoprofeno</i>	2 SC Dosis única	2 SC Dosis única	2.2 IV c/ 24 4-5 d	3 IM Dosis única	ND	5 VO, SC c/ 24 h	3 SC c/ 24 h
<i>Meloxicam</i>	0.1-0.2* VO, SC, IV c/ 24 h	0.1 VO, SC c/ 24 h 3-5 d	ND	ND	ND	1 VO, SC c/ 24 h	0.2 SC c/24 h 3 d

Tabla 3. AINEs más utilizados en diferentes especies animales. Las dosis expuestas son en mg/kg. \* Dosis de carga inicial de 0.2 mg/kg, dosis posteriores de 0.1 mg/kg. IM= Intramuscular; SC=Subcutáneo; IV= Intravenoso; VO= Oral; ND= No determinado.

disminución en la despolarización de la membrana, evitando la formación del potencial de acción

Los factores más influyentes en la actividad de los anestésicos locales pueden clasificarse en dos grandes grupos, en el primero están las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los anestésicos, y en el segundo los factores del paciente y de otros fármacos utilizados conjuntamente con los anestésicos locales.

Las ventajas de los anestésicos locales son las siguientes:

1. Junto a la anestesia general permiten disminuir la dosis de anestésicos generales.
2. Permiten realizar pequeñas intervenciones únicamente con sedación en animales tranquilos.
3. Durante el postoperatorio permiten una analgesia importante y segura.
4. Son baratos y se necesita poco material (agujas y jeringas).
5. Las técnicas son generalmente fáciles de realizar.
6. Pueden emplearse en casi todo tipo de pacientes.

La única precaución a tener en cuenta es la de adecuar las dosis al peso del paciente para evitar los principales signos de toxicidad sobre el SNC, cardiovasculares y alérgicas. Los anestésicos locales más utilizados en veterinaria son la lidocaína, bupivacaína y mepivacaína.

### c. $\alpha$ -2 Agonistas

Los  $\alpha$ -2 agonistas son una familia de fármacos cuyo mecanismo de acción no se conocía bien hasta hace pocos años. Actualmente se sabe que actúan estimulando de forma muy específica los receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos centrales y periféricos. Los receptores  $\alpha$ -2 pueden clasificarse en tres tipos,  $\alpha$ -2A,  $\alpha$ -2B y  $\alpha$ -2C. Funcionalmente, la activación de los receptores  $\alpha$ -2A produce analgesia y sedación-hipnosis. Los receptores  $\alpha$ -2B están relacionados con la regulación de la resistencia vascular y los  $\alpha$ -2C en los efectos hipotérmicos presentes en esta familia de fármacos (Lamont y Tranquilli, 2002).

En el SNC los  $\alpha$ -2 receptores están localizados tanto en las neuronas noradrenérgicas como en las no-noradrenérgicas, produciendo analgesia tanto a nivel pre como post-sináptico (Lamont y Tranquilli, 2002).

Los  $\alpha$ -2 agonistas no son anestésicos generales ni analgésicos de primera elección y deberían ser clasificados como adyuvantes para la anestesia como para la analgesia. Son fármacos muy efectivos cuando se administran junto a otros agentes como los opioides, pudiendo utilizarse en la analgesia balanceada, pues la combinación de estas dos familias de fármacos induce un efecto de sinergismo. Los  $\alpha$ -2 agonistas contribuyen a producir analgesia principalmente en el dolor musculoesquelético, visceral y de origen neuropático. Sin embargo, comparada con la sedación, el efecto

analgésico de los  $\alpha$ -2 agonistas tiene una menor duración.

Los  $\alpha$ -2 agonistas son utilizados para conseguir una analgesia y sedación en procedimientos no invasivos y de corta duración; en protocolos preanestésicos, al producir una analgesia, sedación y relajación muscular suficiente para reducir las dosis de los anestésicos; y también puede administrarse como analgésico a nivel epidural o intratecal, e intraarticular (Lamont y Tranquilli, 2002).

A pesar de estas características, los  $\alpha$ -2 agonistas deben ser administrados con precaución y debe realizarse una correcta evaluación y selección del paciente, ya que sus efectos secundarios pueden producir importantes alteraciones, como bradicardias, hipotensión y bloqueos atrio-ventriculares. También pueden provocar depresión respiratoria con aparición de una moderada acidosis respiratoria, y vómitos e hiper-glicemia por una inhibición en la secreción de insulina.

#### **d. Otros fármacos**

En esta sección se encuentran una serie de analgésicos de humana con una aplicación en medicina veterinaria en aumento.

##### *Ketamina*

La ketamina es un agente disociativo en la que se ha caracterizado recientemente una acción antagonista en los

receptores NMDA. La estimulación de los receptores NMDA produce una sensibilización del SNC, así fármacos bloqueantes de estos receptores tendrán la capacidad de producir analgesia, potencialmente con dosis menores a las utilizadas habitualmente. Dosis de 10  $\mu$ g/kg/min. durante el periodo quirúrgico y de 2  $\mu$ g/kg/min. durante el postoperatorio han sido utilizadas en protocolos analgésicos sin aparecer efectos secundarios importantes (Gaynor, 2002). Sin embargo la ketamina, a microdosis, por si sola tiene muy poco efecto analgésico y debe ser utilizada junto a opioides para poder ser efectiva.

##### *Tramadol*

Analgésico sintético inhibidor de la reentrada de serotonina y norepinefrina en las terminaciones nerviosas, y con una unión débil a los receptores  $\mu$ . Sin embargo, su principal metabolito tiene 200 veces más afinidad por los receptores  $\mu$  (Gaynor, 2002). Puede utilizarse para el tratamiento de dolor moderado a severo con escasos efectos cardiovasculares y respiratorios. No obstante, puede potenciar la depresión respiratoria si se combina con otros anestésicos. En medicina humana es utilizado para el tratamiento del dolor asociado a neuropatías, dolores articulares y dolor crónico. La administración de tramadol a dosis de 2 mg/kg tras ovariectomías en perras ha proporcionado analgesia similar a la administración de 0.2 mg/kg de morfina (Mastrocinque y Fantoni, 2003).

### 2.2.2. Fármacos opioides

Los opioides han sido y son los principales fármacos utilizados para el tratamiento del dolor en medicina veterinaria (Pascoe, 2000). El término opioide se refiere a todos los fármacos derivados del opio (*Papaver somniferum*), como por ejemplo la morfina y la codeína. Debido al desarrollo de análogos sintéticos, actualmente el término opioide representa a todos los fármacos con acciones similares o derivadas de la morfina. Los opioides también son conocidos como narcóticos y se debe a la capacidad para producir narcosis o somnolencia en humanos y en algunas especies animales; sin embargo, debemos recalcar que no todos los opioides analgésicos inducen somnolencia o narcosis.

Los opioides se unen al menos en cuatro tipos de receptores: mu ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ), delta ( $\delta$ ) y sigma ( $\sigma$ ). Estos se han identificado en el sistema nervioso central y autónomo, en el plexo mientérico del tracto gastrointestinal, en el corazón, riñón, conducto deferente, páncreas, adipocitos, linfocitos y glándulas adrenales [Budd (a), 2002]. Los efectos de cada receptor están descritos en la Fig.13.

Los opioides bloquean la transmisión del estímulo doloroso en los receptores  $\mu$ ,  $\kappa$ , y  $\delta$  pre- o post-sinápticos de las vías aferentes, bloquean la transmisión del estímulo a nivel central y potencian las vías inhibitorias (Branson y Gross, 2003). A nivel periférico producen una disminución de la excitabilidad de la neurona primaria aferente.

Receptor	Efecto
$\mu$	<b>Analgesia supraespinal, espinal y periférica</b> <b>Euforia, depresión respiratoria, bradicardia, estreñimiento, retención urinaria, hipotermia, miosis, elevado potencial de adicción</b>
$\kappa$	<b>Analgesia supraespinal, espinal y periférica</b> <b>Sedación, diuresis, miosis, depresión respiratoria y bradicardia</b>
$\delta$	<b>Analgesia supraespinal, espinal y periférica</b> <b>Depresión respiratoria, bradicardia, estreñimiento, retención urinaria, elevado potencial de adicción</b>
$\sigma$	<b>Excitación- delirio, taquicardia, midriasis e hipertensión</b>

Fig. 13. Clasificación de los receptores opiáceos [Budd (a), 2002].

La cinética de las diferentes moléculas en sus receptores se puede definir según la unión (afinidad) y la capacidad de activar a dichos receptores (actividad intrínseca). La clasificación de los opioides actualmente se realiza teniendo en cuenta el tipo de unión y de receptores que activan.

Farmacológicamente los opioides pueden clasificarse en tres tipos diferentes (Fig.14) (Bailey y Stanley, 1998; Branson y Gross, 2003):

1. *Agonistas puros*: opioides con afinidad y actividad sobre todos los receptores clínicamente relevantes. Se les conoce por su capacidad para producir analgesia profunda y también efectos secundarios importantes, como la depresión respiratoria.
2. *Antagonistas*: opioides con afinidad pero no actividad en los receptores opioides. Se utilizan para revertir a los agonistas al no tener propiedades analgésicas significativas.
3. *Agonistas-antagonistas*: opioides con afinidad por todos los receptores opioides, pero sólo presentan un comportamiento agonista en algunos de ellos y en el resto de receptores tienen una actividad antagonista. Dentro de este tipo de opioides se encuentran los *agonistas parciales*; representan aquellos opioides con afinidad por algunos receptores y en otros receptores opioides no poseen afinidad o actividad. La eficacia de estos fármacos es

limitada al no activar por completo a los receptores.

El grado de analgesia de un opioide está determinado por la afinidad y actividad intrínseca. Cuanto mayor sea la afinidad de una sustancia por el receptor más pequeña será la dosis y el número de moléculas necesarias para ocupar suficientes receptores y desarrollar un nivel determinado de efecto. Así pues, para realizar analgesia, un opiáceo debe poseer una afinidad y una actividad intrínseca en el receptor suficientemente elevadas (Bailey y Stanley, 1998).

En los opioides conviene tener en cuenta que no siguen la ley de acción de masas. Es decir, la relación entre el porcentaje de ocupación de receptores y los efectos opiáceos no se correlacionan. En la mayoría de opioides la DE<sub>50</sub> (dosis eficaz 50) biológica de su efecto no corresponde a la ocupación del 50% de los receptores (Bailey y Stanley, 1998).

Fármaco	μ	κ	δ	σ
<b>Agonistas</b>				
Morfina	+++	++	++	
Petidina	++	+	++	
Metadona	+++	+	++	
Fentanilo	++++		+	
<b>Agonista-antagonista</b>				
Butorfanol	-	(++)	-	++
Nalbufina	-	(++)	(++)	+
Buprenorfina	(+++)	-	+/-	
<b>Antagonista</b>				
Naloxona	--	-	-	-
Naltrexona	--	-	-	-

Fig.14. Afinidad y efecto en los receptores de los opioides utilizados en veterinaria. +,-: Leve, ++, - -: Moderado, +++, - - -: Marcado, +++++, - - - -: Muy marcado, () efectos de agonista parcial, - Ningún efecto o antagonista. [Pascoe, 2000; Muir (c), 2002; Branson y Gross, 2003].

El principal mecanismo celular en la acción de los opiáceos parece ser la estimulación de receptores estereoespecíficos en la superficie de la membrana celular y las interacciones de la proteína G (Reisine y Pasternak, 1996; Bailey y Stanley, 1998). Los agonistas opioides con unión al receptor  $\mu$  y  $\delta$  pueden originar una inhibición del AMP-cíclico, mediada por la proteína G (se libera una subunidad de la proteína sobre el AMPc). Todo ello produce una inhibición del adenilato ciclasa, una enzima moduladora de la liberación de neurotransmisores nociceptivos como la sustancia P. También inducen una hiperpolarización de la membrana al incrementar la conductancia iónica al potasio, disminuyendo la transmisión sináptica. Los receptores  $\kappa$  tienen también un mecanismo mediado por la proteína G el cual bloquea las corrientes de calcio sensibles al voltaje. La disminución de la entrada de calcio reduce la movilización y liberación de los neurotransmisores. Esta disminución en la entrada de calcio puede explicar parcialmente la potenciación de la analgesia inducida por opioides tras la administración de bloqueantes de la entrada de calcio. Todos estos efectos sobre la membrana celular reducen la excitabilidad neuronal y la liberación de neurotransmisores.

Los opioides también actúan como moduladores de los sistemas endocrino e inmunológico. Así, inhiben la liberación de vasopresina, somatostatina, insulina y glucagón, al bloquear los neurotransmisores GABA y acetilcolina. Actualmente no se conoce cómo los agonistas opiáceos

estimulan al mismo tiempo procesos estimulantes e inhibitorios (Bailey y Stanley, 1998; Branson y Gross, 2003).

Dependiendo de la potencia, especificidad, y eficacia a los diferentes receptores, y de la dosis, vía de administración y especie de destino los opioides presentan una amplia variedad de efectos (deseados e indeseados).

Los principales efectos de los opioides son:

**Sedación - Excitación.** En el SNC está bien documentado la excitación, disforia y/o sedación producida por los opioides. La sedación, especialmente cuando se administran conjuntamente con tranquilizantes o sedantes, nos va a ayudar a mejorar la confortabilidad de los animales.

Dependiendo del opioide y el animal aparecerá excitación o disforia. Algunas razas de perros (Huskies, Doberman, Labradores), los gatos, caballos, rumiantes y cerdos son más susceptibles a la excitación de los opioides agonistas puros. Este efecto parece estar relacionado con las diferencias en la distribución de los correspondientes receptores opiáceos en el cerebro (Papich, 2000).

**Depresión respiratoria.** Es uno de los efectos adversos más comunes de los opioides. Todos los opioides producen depresión respiratoria y disminuyen la respuesta del cerebro a los aumentos de  $\text{CO}_2$ . Suele apreciarse un descenso en la frecuencia respiratoria y pequeños cambios en el

volumen tidal. La depresión respiratoria en los animales parece tener poca relevancia y han sido descritos muy pocos casos en comparación con las personas (Papich, 2000). La depresión respiratoria puede potenciarse con la administración de sedantes (fenotiazinas, benzodiacepinas...).

**Efectos cardiovasculares.** La gran mayoría de opioides son relativamente seguros si se administran a las dosis recomendadas. Sus efectos son variables dependiendo de la especie, el fármaco y la vía de administración. Los opioides  $\mu$  agonistas pueden producir bradicardia por estimulación del tono vagal. Esta bradicardia responde a la administración de anticolinérgicos. La morfina y la meperidina administradas vía intravenosa (IV) producen hipotensión secundaria a la liberación de histamina y vasodilatación (Papich, 2000).

**Alteraciones gastrointestinales.** *Nauseas y vómitos:* los opioides agonistas puros, principalmente la morfina, pueden producir el vómito por estimulación de los quimiorreceptores medulares del centro del vómito, posiblemente por la liberación de dopamina (Papich, 2000). El vómito se produce principalmente cuando los opioides son administrados en la premedicación, antes de la cirugía. En animales con dolor, el vómito aparece con mucha menos frecuencia.

*Estreñimiento:* los receptores opiáceos gastrointestinales producen un descenso de propulsión en las contracciones de la musculatura lisa e incrementan el intervalo entre cada una; también

aumentan la absorción de agua y electrolitos. Todas estas acciones enlentecen el tránsito gastrointestinal produciendo estreñimiento (Papich, 2000).

**Hipotermia.** Los opioides agonistas de los receptores  $\mu$  (parciales o puros) producen una mayor tolerancia a las pérdidas de calor sin iniciar los mecanismos compensatorios respecto al resto de opioides (Papich, 2000). Esta hipotermia tendrá una gran importancia en el postoperatorio, ya que va a retrasar la recuperación de los animales.

**Retención urinaria.** Los opioides  $\mu$  agonistas pueden producir retención urinaria al inhibir las vías eferentes parasimpáticas, debido a una relajación del músculo detrusor, a un aumento de la capacidad de la vejiga y a un aumento del tono del esfínter vesical. La retención urinaria puede ser importante en el postoperatorio del animal y en cirugías del tracto urinario. Es recomendable monitorizar la diuresis en animales tratados con opioides  $\mu$  agonistas, y si fuese necesario, cateterizar la vejiga para facilitar el vaciado de la vejiga durante el postoperatorio (Papich, 2000).

**Sistema inmunitario.** Muchos opioides producen una inmunosupresión por la activación del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal, por la activación del SNS y por la unión directa a receptores opiáceos en los linfocitos. Todo ello conlleva a una disminución en la proliferación de linfocitos T y B, una disminución en la actividad citotóxica de los linfocitos

“natural killer” y una disminución en la producción de gamma interferón [Budd (b), 2002; Martucci *et al.*, 2004], aumentando la susceptibilidad de las personas y animales a las infecciones bacterianas y víricas.

Según la acción farmacológica, los principales opioides empleados en medicina veterinaria pueden clasificarse en:

#### **a. Opiáceos agonistas puros**

Son las drogas más efectivas para el tratamiento del dolor moderado y grave (Branson y Gross, 2003). Los más utilizados en veterinaria son la morfina, meperidina, fentanilo, etorfina y metadona.

##### *Sulfato de morfina*

Es el opioide prototipo, por lo que, con frecuencia, la potencia de otros opiáceos se establece en relación con la potencia de la morfina (Reisine y Pasternak, 1996). Es un agonista puro con afinidad  $\mu$  y  $\kappa$ , produciendo analgesia preespinal y espinal. Se usa en la preanestesia para producir analgesia con sedación (potenciada con un tranquilizante) y para el tratamiento del dolor grave a moderado durante el postoperatorio (Branson y Gross, 2003). Puede administrarse por cualquier vía (IV, IM, SC, epidural, intrarticular y oral). Tras la administración sistémica la duración del efecto es de 4-6 horas (Wagner, 2002). Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4.

Los principales efectos secundarios son (Papich, 2000; Wagner, 2002):

1. Depresión del centro respiratorio.
2. Depresión del centro de la tos.
3. Estimulación del centro del vómito e incremento del peristaltismo intestinal tras la administración. Posteriormente produce una disminución del peristaltismo y aumento del tono de los esfínteres gastrointestinales.
4. Liberación de histamina, sobretodo tras la administración intravenosa.
5. Puede producir bradicardia.
6. Excitación o disforia en algunas especies animales (gato, caballo).

##### *Meperidina-Petidina*

Opioide sintético. No suele usarse como analgésico postoperatorio por tener débil efecto analgésico (1/10 parte de la morfina) y corta duración (aproximadamente 1 hora) (Wagner, 2002). A dosis terapéuticas su efecto sedante es leve y escasamente deprime el sistema respiratorio. Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4.

Los principales efectos secundarios son (Wagner, 2002):

1. Liberación de histamina, sobretodo tras la administración intravenosa.
2. Efecto inotrópico negativo.
3. Vía intramuscular produce dolor durante la inyección.
4. Toxicidad renal.

### Fentanilo

Opioide sintético de acción corta. Es el analgésico más potente (100-150 veces la morfina), pero de acción más corta, sólo 30 minutos. Si se utiliza durante la cirugía disminuye el gasto de anestésicos inhalatorios hasta un 60 - 63% (Wagner, 2002).

Debido a la corta duración de su acción, comúnmente se administra en forma de bolos cada 30 min. o en infusión continua a 10-45 µg/kg/hora intraoperatoriamente (aumenta la analgesia y reduce los requerimientos de agentes anestésicos) y en el postoperatorio a 2-5 µg/kg/hora. Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4.

Los principales efectos secundarios son (Wagner, 2002):

1. Depresión del sistema nervioso central.
2. Puede producir bradicardia, pero no disminuye el output cardíaco ni la presión arterial.
3. Puede producir depresión respiratoria, sobretodo al mezclarlo con otros productos depresores (anestésicos inhalatorios e inyectables).

Actualmente el fentanilo también se comercializa como parche de aplicación transdérmica. Aunque esta presentación fue desarrollada para humanos se han realizado diversos estudios para valorar

la farmacocinética y farmacodinamia en diferentes especies animales (Egger *et al.*, 1998; Hofmeister y Egger, 2004; Kyles *et al.*, 1996 y 1998; Lee *et al.*, 2000; Maxwell *et al.*, 2003; Robinson *et al.*, 1999). Las presentaciones de los parches de fentanilo son de 12, 25, 50, 75 y 100 µg/h. En el siguiente cuadro aparecen las dosificaciones de los parches de fentanilo en el perro y el gato según el peso de este (Wagner, 2002).

Especie	Peso	Parche
Canina y felina	< 7	25 µg/h
Canina	7-20	50 µg/h
Canina	20-30	75 µg/h
Canina	> 30	100 µg/h

Los parches tardan en actuar, de 4 a 12 horas en el gato y de 12 a 14 horas en el perro, así deberán aplicarse 6 horas antes del procedimiento quirúrgico en el gato y 12 horas antes en el perro.

La duración de la analgesia de los parches de fentanilo es de 72-104 horas (Wagner, 2002). Si se aplica el parche en el postoperatorio, durante el periodo inicial de 12 a 24 horas debe añadirse analgesia adicional.

Un problema que obstaculiza la utilización de los parches de fentanilo en los animales es su precio y la dificultad para conseguirlos en la clínica veterinaria.

### *Metadona*

Opioide sintético, con una actividad analgésica similar a la morfina, aunque produce menos sedación y no induce el vómito (Wagner, 2002). Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4.

### **b. Opiáceos agonistas-antagonistas**

Opioides utilizados principalmente para el tratamiento del dolor leve ha moderado por tener una menor analgesia. Sin embargo, son fármacos más seguros debido a una menor intensidad de sus efectos secundarios.

### *Butorfanol*

Opioide sintético agonista de los receptores  $\kappa$ . Provoca un grado variable de analgesia y sedación, con mínima depresión cardiopulmonar; incluso a dosis elevadas los efectos no son mayores al haber un “efecto techo” (a partir de una determinada dosis no hay aumento de sus efectos, principalmente la analgesia). Comparado con la morfina produce menor depresión del SNC. Tiene afinidad por los receptores  $\mu$  sin apenas realizar efecto, siendo considerado como antagonista de estos receptores (Wagner, 2002).

El efecto analgésico es de corta duración, aproximadamente de 1.5-2 horas. Es útil para el tratamiento del dolor leve a moderado visceral, sobretodo abdominal. Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4. El efecto sedante del butorfanol

se mantiene durante más tiempo que el analgésico y puede ser confundido con una analgesia efectiva (Wagner, 2002).

### *Buprenorfina*

Agonista parcial de los receptores  $\mu$  y antagonista de los receptores  $\kappa$ . Fármaco muy utilizado en la clínica veterinaria para el tratamiento del dolor leve ha moderado. Por ser el fármaco de nuestro estudio, sus características son descritas en el apartado 2.4.

### **c. Opiáceos antagonistas**

Estos opioides tienen afinidad pero no actividad en los receptores (Branson y Gross, 2003). Por carecer de propiedades analgésicas significativas, los antagonistas se utilizan para revertir los efectos de los agonistas. Para revertir de forma efectiva a los agonistas deben unirse a los receptores y bloquear el acceso a los agonistas. Esto puede realizarse utilizando un antagonista con una mayor afinidad por el receptor o utilizando una dosis mayor.

### *Naloxona*

La naloxona está considerada como un antagonista competitivo puro, principalmente de los receptores  $\mu$ . No produce la depresión respiratoria asociada a otros antagonistas narcóticos e inhibe completamente los efectos de depresión respiratoria, sedación y analgesia. Al eliminar completamente la analgesia se recomienda la administración de un analgésico no

opioide antes de la naloxona (Branson y Gross, 2003).

La naloxona tiene una duración de acción menor a la de los opioides, de 20-40 min. tras la administración IV y de 40-70 min. tras la administración intramuscular (IM) (Wagner, 2002); así puede pasar el fenómeno de renarcotización o sedación pasado este tiempo. Para evitar este efecto rebote

debe reinyectarse naloxona. Aunque no es común, se han descrito la aparición de arritmias cardíacas (complejos ventriculares prematuros), al revertir los efectos de los opiáceos tras la administración de naloxona, particularmente en casos de elevadas concentraciones de catecolaminas en sangre (dolor) (Branson y Gross, 2003). Las dosis recomendadas pueden consultarse en la tabla 4.

Opioide	Perro	Gato	Caballo	Cerdo	Oveja	Hurón	Roedores	Conejo
<i>Butorfanol</i>	0.2-0.6 IM, SC, IV c/ 2-4 h	0.2-0.8 IM, SC, IV c/ 2-4 h	0.05-0.1 IV, IM c/ 8 h	0.1-0.3 IM c/ 4 h	0.5 IM, SC c/ 2-3 h	0.4 IM c/ 4 h	1-2 IM, SC c/ 2-4 h	0.1-0.5 IM, SC, IV c/ 6-12 h
<i>Fentanilo</i>	0.001-0.005 IV c/ 30 min.	0.001-0.005 IV c/ 30 min.	0.003-0.004 IV c/ 0.5-1 h	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Metadona</i>	0.1-0.25 IM, SC, IV c/ 4-8 h	0.1-0.5 IM	0.1 IM c/ 4 h	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Morfina</i>	0.1-1 IM, SC, IV c/ 4-8 h	0.1-0.2 IM, SC, IV c/ 8-8 h	0.1 IM c/ 4 h	0.2-1 IM c/ 4 h	0.2-0.5 IM c/ 2-4 h	0.5-2 IM, SC c/ 4-6 h	2-5 IM, SC c/ 4 h	2-5 IM, SC c/ 4 h
<i>Petidina (meperidina)</i>	3.5-10 IM c/ 2 h	3.5-10 IM c/ 2 h	1-2 IM c/ 1-2 h	2 IM, IV c/ 2-4 h	2 IM, IV c/ 2 h	5-10 IM c/ 4-6 h	10-20 IM, SC c/ 2-3 h	5-10 IM, SC c/ 2-3 h
<i>Naloxona (antag)</i>	0.04-1 IM, SC, IV	0.04-1 IM, SC, IV	0.02-0.04 IM, SC, IV	ND	ND	0.04-1 IM, SC, IV	0.01-1 IM, SC, IV	ND

**Tabla.4. Opioides más utilizados en diferentes especies animales.** Las dosis expuestas son en mg/kg. Igualmente las dosis deberían ajustarse individualmente y el intervalo de administración debe ajustarse según el control del dolor. IM= Intramuscular; SC=Subcutánea; IV= Intravenoso; ND= No determinado. (Papich, 2000; Pascoe, 2000; Wagner, 2000).

## 2.3. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

### 2.3.1. Generalidades

La elección de la vía de administración y las técnicas de administración pueden ser un factor importante para conseguir una analgesia efectiva con la menor aparición de efectos secundarios o tóxicos. En la elección de la vía y técnica de administración debe tenerse en cuenta las características farmacocinéticas del analgésico y las características del animal (especie, edad, estado nutricional...). También debe considerarse la buena tolerancia y comodidad suficiente para evitar el estrés a los animales.

Las vías y técnicas analgésicas más utilizadas en veterinaria son las siguientes:

#### a. Oral

Principal vía de administración para tratamientos de duración prolongada o en algunos tipos de dolor agudo. Pueden administrarse analgésicos oralmente junto a una administración con inyectables para conseguir un efecto aditivo o de sinergia.

En la administración oral debe tenerse en cuenta el metabolismo de primer paso realizado por el hígado, ya que afectará en la biodisponibilidad y en la eficacia clínica de muchos analgésicos, especialmente en opioides (Polache y Granero, 1998). También afecta la

dieta, la conducta del animal ante los alimentos, la formulación de fármaco y la presencia de enfermedades gastrointestinales, pues pueden alterar la absorción de los fármacos vía oral.

Finalmente, un factor muy importante es la complicidad del propietario o cuidador para que el animal reciba la dosis y pauta correcta del analgésico.

#### b. Sublingual, bucal y transmucosa

Son administraciones donde la biodisponibilidad del fármaco no va a depender del metabolismo hepático de primer paso, sino de las características farmacológicas, de las características de la cavidad oral (saliva y pH oral), de la cooperación del animal y del “sabor” de la formulación (Robertson *et al.*, 2003 y 2005).

#### c. Intranasal

Pocos fármacos han sido estudiados por esta vía. La absorción es rápida, produciendo efecto farmacológico rápidamente sin sufrir metabolismo hepático de primer paso (Lindhart *et al.*, 2000).

#### d. Parenteral

Esta vía incluye la administración intravenosa, intramuscular y subcutánea. La vía intravenosa es la de mayor rapidez y donde mejor se puede predecir los efectos de un fármaco. Es

la vía donde se consigue mayores concentraciones plasmáticas. Los fármacos pueden administrarse en forma de bolos o en infusión continua. Sus características se desarrollan en el apartado 2.3.2.

Las vías intramuscular y subcutánea (SC) son más fáciles de administrar e inducen un efecto farmacológico relativamente rápido (de 5-20 min.), aunque la vía IM suele ser más dolorosa al administrar volúmenes grandes. Por estas vías los analgésicos suelen administrarse con menor frecuencia, las concentraciones plasmáticas suelen ser menores y la aparición de efectos secundarios o signos de toxicidad son menores comparada con la vía IV.

#### **e. Transdérmica**

Administración de fármacos mediante parches o formulaciones específicas que permiten el paso del fármaco a circulación sanguínea evitando el metabolismo hepático de primer paso. La absorción del producto es más lenta respecto al resto de vías; por tanto puede hacer más difícil la dosificación y la predicción de los efectos del fármaco. Como la presente tesis va a utilizar esta vía de administración, sus características son ampliamente desarrolladas en el apartado 2.3.3.

#### **f. Local y/o regional**

Existen una gran cantidad de técnicas y vías de administración para conseguir una analgesia local o regional.

De todas ellas podemos destacar (Gaynor y Khursheed, 2002):

1. *Tópica.* Aplicación de un anestésico local o analgésico en una región de la piel o mucosas (conjuntiva, oral, nasal...) para disminuir la transmisión de estímulos (dolorosos o no) en una zona concreta.
2. *Infiltración.* Aplicación de pequeños volúmenes de anestésico local a través de diversas inyecciones subcutáneas para evitar la transmisión y estimulación de las terminaciones nerviosas locales.
3. *Bloqueos nerviosos.* Aplicación de un anestésico local cerca de plexos nerviosos o de nervios para bloquear la conducción nerviosa de una región corporal. Se han descrito una gran cantidad de técnicas, de las cuales las más utilizadas son el bloqueo paravertebral (grandes animales), bloqueo intercostal y el bloqueo del plexo braquial (pequeños animales).
4. *Intraarticular.* Aplicación de un anestésico local o analgésico en la cavidad intraarticular para desensibilizarla o para obtener analgesia de la articulación.
5. *Anestesia intravenosa local o regional.* Administración IV de un anestésico local en una extremidad aislada del resto del organismo mediante un torniquete.
6. *Epidural.* Aplicación de un anestésico y/o analgésico en el

espacio epidural, generalmente lumbosacro. El anestésico o analgésico actúa en los nervios espinales antes de que salgan de la columna vertebral, realizando el efecto en los nervios afectados por el volumen inyectado en el espacio epidural.

### 2.3.2. Administración intravenosa

La vía intravenosa es la vía de administración parenteral más importante. Permite al fármaco evitar los factores que intervienen en la absorción y consigue la concentración deseada del fármaco en sangre.

Los vasos sanguíneos poseen una capa delgada de células endoteliales aplanadas que constituyen una membrana lipídica, de tal forma que el movimiento del agua y sustancias hidrosolubles a través de los capilares permite una rápida difusión entre los fluidos plasmáticos e intersticiales, siguiendo una cinética de primer orden y asegurando una buena biodisponibilidad (del 100%). Estas características permiten a la vía intravenosa utilizarla como punto de referencia en los estudios farmacocinéticos, pues es la única que consigue caracterizar con precisión la disposición de los fármacos y el cálculo de sus constantes cinéticas (Torres y Peris, 2001).

Actualmente la administración intravenosa se utiliza por los siguientes motivos (Torres y Peris, 2001):

- cuando el fármaco administrado no se absorbe por vía oral o lo hace muy mal.
- cuando se quiere obtener una respuesta farmacológica rápida.
- cuando el estado del paciente impide o dificulta la administración por vía oral.
- cuando se pretende administrar dosis precisas.
- cuando se precisa administrar grandes volúmenes de fluidos, para restablecer la homeostasis, para rehidratar y reponer electrolitos o como nutrición parenteral.

La administración intravenosa puede realizarse mediante un bolo en un espacio de tiempo corto o a través de una perfusión continua. Esta última pretende obtener un efecto farmacológico durante un periodo de tiempo prolongado, utilizándose en fármacos con una semivida biológica corta (evita tratamientos con intervalos de dosificación muy cortos) o en los que poseen un margen terapéutico estrecho.

Esta vía proporciona la máxima rapidez de efectos si hay una buena perfusión sanguínea, aunque estos duran menos tiempo respecto a las otras vías como consecuencia del rápido descenso de los niveles plasmáticos (exceptuando la administración continua).

Los principales inconvenientes de esta vía son (Torres y Peris, 2001):

- es la forma de administración menos económica, ya que necesita

material especial como jeringas, agujas...

- para la perfusión continua es necesario la canulación de una vena a través de un catéter. Será necesario evaluar la aparición de signos de extravasación, tromboflebitis o inflamación secundarios a la presencia del catéter.
- precisa de personal especializado.
- cuando se produce una extravasación pueden aparecer infecciones, flebitis, trombosis o necrosis de los tejidos, especialmente en la administración de fármacos o soluciones irritantes (hipertónicas, alcalinas o ácidas) y/o de determinados fármacos como los antineoplásicos.
- es la vía de administración donde se consiguen mayores concentraciones plasmáticas y por tanto pueden aparecer con mayor facilidad los efectos secundarios, de toxicidad o de reacción anafiláctica.

### 2.3.3. Administración transdérmica

La piel es uno de los órganos más grandes del cuerpo, pudiendo llegar a representar el 12% del peso corporal de un animal adulto y el 24 % en un animal joven (Pavletic, 2003). Numerosas y muy variadas funciones van a depender de la conservación de su integridad morfológica. Sufre constantes agresiones físicas y químicas al estar en contacto directo con el medio externo, pudiendo

padecer alteraciones funcionales con efectos sobre el organismo.

Su principal función es actuar como barrera entre el medio externo e interno, impidiendo la pérdida de agua, electrolitos y macromoléculas, además de *proteger* al organismo contra la invasión de agentes físicos, químicos y microbianos.

Otras funciones importantes de la piel son (Scott *et al.*, 2001); *reservorio* de electrolitos, agua, grasa, hidratos de carbono y proteínas. Participa en la activación y metabolismo de la vitamina D; participa en la *percepción* sensorial del animal; *termorregulación*, a través de los pelos, el flujo sanguíneo y las glándulas; *inmunorregulación*, gracias a los queratinocitos, células de Langerhans y los linfocitos; permite el *movimiento* y los cambios de forma del cuerpo; y *secreción* de sustancias, a través de las glándulas

La piel puede utilizarse como una vía de administración de fármacos, tanto para tratamientos locales como sistémicos. Inicialmente, el objetivo de la aplicación de un fármaco sobre la piel tenía la intención de tratar alteraciones cutáneas, pues se consideraba la piel como una barrera impermeable entre el organismo y el medio externo. Estudios más recientes han puesto de manifiesto que la piel puede utilizarse como una vía de administración de fármacos para tratamientos sistémicos a través de los sistemas de administración transdérmica, debido a su facilidad de administración y por ser poco invasiva.

Para la administración de fármacos vía transdérmica deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos:

- a. Estructura de la piel y sus anejos.
- b. Factores que afectan la absorción cutánea.
- c. Métodos o sistemas desarrollados.

## a. Estructura de la piel y sus anejos

### a.1. Características generales

La piel es un órgano complejo formado por una serie de capas con unas funciones y componentes diferentes pero interrelacionados. Estos componentes pueden clasificarse en:

- tres capas diferenciadas histológicamente (epidermis, dermis y subcutáneo).
- los anejos cutáneos.
- la vascularización e inervación.

La profundidad de la piel desciende de dorsal a ventral en el tronco y de proximal a distal en las extremidades. Las zonas de la piel de la frente, dorso del cuello, zona dorsal del tórax, zona lumbar y base de la cola, son las de mayor grosor. Por el contrario, la axila, zona perianal e inguinal son las de menor grosor. Otro factor influyente en la profundidad de la piel es la especie animal; por ejemplo, el grosor medio de la piel en el perro es de 0,5 – 5 mm y en el gato de 0,4 – 2 mm. (Scott *et al.*, 2001).

La superficie de la piel en los mamíferos es ácida. Como sucede con

el grosor de la piel, el pH cambia según la especie y raza, según el día, varía en diferentes zonas de la piel y el macho tiene un pH mayor que la hembra. El pH en el perro y el gato oscila entre 5,5 – 7,5 (Scott *et al.*, 2001).

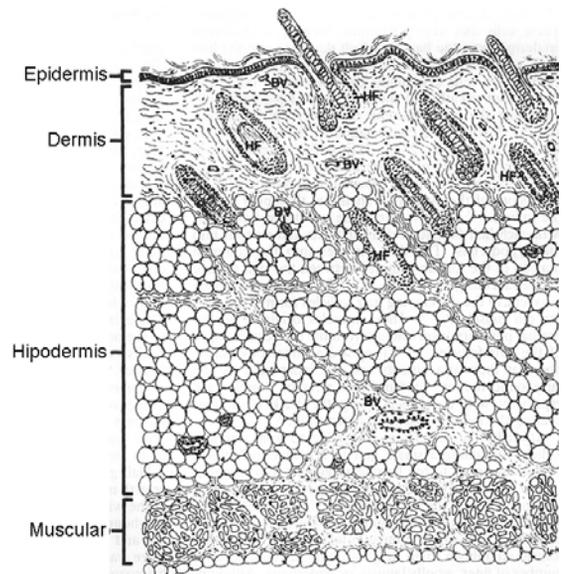


Fig.15. Estructura de la piel de los mamíferos.

### a.2. Descripción histológica

La piel se compone de las siguientes capas:

#### *Epidermis*

Es la capa más externa. Está compuesta por queratinocitos (85%), melanocitos (5%), células de Langerhans (3-8%) y células de Merkel (2%) (Scott *et al.*, 2001). El grosor de la epidermis es mayor en las áreas con menor densidad de pelos y es más delgada en las áreas con más pelo. En el perro y el gato tiene una profundidad de

0,1 – 0,5 mm (Scott *et al.*, 2001) y en el hombre de 0,2 mm (Ritschel y Hussain, 1988).

Funcionalmente se divide (desde el interior al exterior) en *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum* y *stratum corneum*. El *stratum basale* y el *stratum spinosum* son las capas con mayor actividad metabólica, compuestas mayoritariamente por queratinocitos. Estos están en constante división, para reemplazar las pérdidas de células de las capas superiores. La queratina es sintetizada en el *stratum spinosum* y *granulosum*. En estas capas se empieza a producir un cambio en los lípidos, pasando de lípidos polares (fosfolípidos) a neutros (ceramidas, colesterol y ácidos grasos).

El *stratum corneum*, formado por numerosas capas de corneocitos suspendidos en una matriz lipídica, es la principal barrera física de la piel. Las capas más externas están en una muda continua (por la fricción con el ambiente externo) y son reemplazadas por la migración de las capas inferiores. En el hombre, aproximadamente, a las 4 semanas este ciclo se ha completado (Riviere y Papich, 2001).

Se han descrito diferentes composiciones en los lípidos del *stratum corneum* entre las especies animales y el hombre. Por ejemplo, en la piel del gato y el perro hay una mayor cantidad de esteroides, colesterol y ceras; y menos triglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos respecto a la piel humana (Scott *et al.*, 2001).

## Dermis

Situada bajo la epidermis, está constituida por tejido conectivo formado por fibras proteicas insolubles (colágeno y elastina) alojadas en una sustancia amorfa formada por polímeros insolubles (proteoglicanos y hialuronanos). Se describen dos zonas, el área papilar (zona más superficial) y el área reticular. Las principales células que se pueden encontrar son los fibroblastos, mastocitos y células fagocíticas (macrófagos e histiocitos) (Serna *et al.*, 2005).

En el interior de la dermis se encuentran los vasos sanguíneos y linfáticos, las terminaciones nerviosas, las diferentes glándulas, el músculo piloerector y los folículos pilosos.

## Hipodermis (subcutáneo)

Es la capa más profunda y, habitualmente, más gruesa de la piel. El 90% de su peso es por los triglicéridos. Las funciones de esta capa son de reserva energética, control de la termorregulación, y dar soporte y mantener los contornos de la piel. El grosor de la hipodermis varía en las diferentes zonas del cuerpo, incluso hay zonas donde no hay subcutáneo (labios, párpados, ano...).

### a.2. Anejos

Formando parte de la piel nos podemos encontrar las siguientes estructuras:

Folículos pilosos: situados en la zona baja de la dermis y en la hipodermis, se distribuyen a lo largo del cuerpo del animal. Dependiendo de la especie los pelos pueden estar dispuestos individualmente o en grupos. Por ejemplo, en el perro hay 2-15 pelos por grupo dando una densidad de 100-600 pelos/cm<sup>2</sup> (Scott *et al.*, 2001); y en la oveja hay un pelo por cada folículo piloso, pero con una densidad de 10000 pelos/cm<sup>2</sup> (Mills y Cross, 2006). El pelo tiene tres fases en su ciclo de crecimiento: anagen, fase de crecimiento; catagen, fase de transición; y telogen, periodo de inactividad. El fotoperiodo y, en menor medida, los cambios de temperatura van a influenciar en el ciclo; por ejemplo el perro, en verano el 50% de los folículos están en fase de telogen y en invierno el 90% (Scott *et al.*, 2001).

Glándulas sebáceas: asociadas al folículo piloso, desembocan en el infundíbulo de este. La emulsión producida por estas glándulas está formada por triglicéridos y ésteres de cera, y sirven para envolver la piel e hidratarla, además de actuar como una barrera física y química.

Glándulas sudoríparas: situada bajo las glándulas sebáceas liberan sustancias antimicrobianas y feromonas. El caballo y el hombre son las únicas especies donde las glándulas segregan gran cantidad de sudor para controlar la

termorregulación (Scott *et al.*, 2001).

Músculo piloerector: situado en todas las zonas donde hay pelo, se inserta en el folículo piloso y la dermis superficial. Ayuda a la termorregulación.

### **a.3.Vascularización e inervación**

La vascularización de la piel es un sistema complejo, dinámico e importante para el metabolismo de la piel, para el control de la temperatura y para las defensas del animal.

El sistema vascular de la piel se divide en 3 capas intercomunicadas (Fig.16):

- a) Plexo profundo o subdérmico: es el plexo más grande. Sus vasos se extienden en el tejido subcutáneo y las capas profundas de la dermis. Irriga las porciones más bajas del folículo piloso, de las glándulas sudoríparas y del músculo piloerector. De él salen vasos ascendentes para formar el plexo medio.
- b) Plexo medio o cutáneo: posee ramas que ascienden y descienden por la dermis. Irriga las glándulas, el folículo piloso y el músculo piloerector. Dependiendo de la distribución de los folículos pilosos este plexo variará en su forma y posición (Pavletic, 2003). De él

salen vasos ascendentes para formar el plexo superficial.

- c) Plexo superficial o subpapilar: situado bajo la epidermis, forma unos bucles capilares para irrigar la epidermis y la zona más superficial de los folículos pilosos. Estos bucles están menos desarrollados en el perro y en el gato comparado con el hombre y el cerdo (Pavletic, 2003).

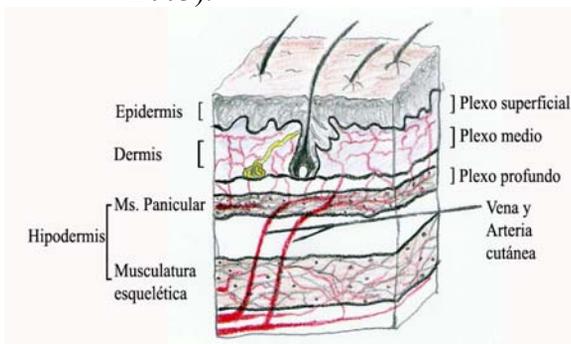


Fig.16. Representación gráfica de las capas de la piel y circulación cutánea en el perro y el gato.

En la dermis profunda se han descrito anastomosis arteriovenosas en los mamíferos (Scott *et al.*, 2001). Estas regulan la circulación de las zonas de la piel y están asociadas a la termorregulación. También existen anastomosis arteriovenosas en el plexo superficial del cerdo y el hombre, pero no en el resto de animales domésticos. La formación de eritemas y de ampollas (quemaduras) son características sólo de las especies con anastomosis arteriovenosas superficiales (Pavletic, 2003).

Los vasos linfáticos se encuentran por la dermis superficial y rodeando los anejos. Su principal función es llevar los nutrientes a las diferentes capas de

la piel, transportar el material que ha penetrado en la epidermis y la dermis, y formar parte del sistema inmunitario.

En general, la inervación está asociada a los vasos sanguíneos, a diversos órganos cutáneos (corpúsculo de Pacini, corpúsculo de Meissner...), a las glándulas, a los folículos pilosos y a los músculos piloerectores. La inervación de la piel sirve para la función sensitiva, mediante los mecanorreceptores, los termorreceptores y los nociceptores; para realizar un control en el tono vasomotor y para regular la excreción de las glándulas.

## b. Mecanismos de absorción

En la absorción transdérmica de un fármaco se van a producir una serie de pasos necesarios capaces de condicionar la biodisponibilidad de este. Estos son (Riviere y Papich, 2001):

- Liberación, disolución y difusión del fármaco en el vehículo.
- Difusión desde la formulación hasta las capas más superficiales de la piel.
- Partición en las capas externas de *stratum corneum*.
- Difusión por el *stratum corneum*.
- Partición del fármaco desde el *stratum corneum* (medio lipídico) hacia la epidermis (medio acuoso).
- Difusión de la epidermis a la dermis.
- Entrada a la circulación sistémica, a través de los capilares de la dermis.

Teóricamente pueden considerarse dos vías fundamentales para explicar el paso de fármacos a través de la piel (Fig.17) (Ritschel y Hussain, 1988; Doménech, 1998):

- Transepidérmica, a través del *stratum corneum*, ya sea por vía intercelular como intracelular.
- Transpendicular, a través de la vía transfolicular o transudorípada.

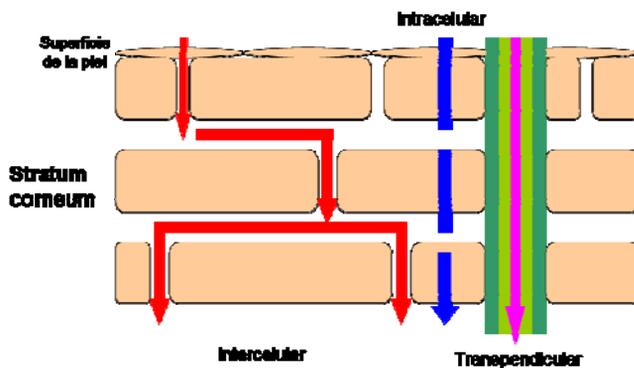


Fig.17. Posibles rutas de transporte a través de la piel.

La principal vía de acceso de fármacos por la piel es la transepidérmica (Mills y Cross, 2006), debido a las grandes diferencias entre la superficie de la epidermis y la superficie de los folículos pilosos y las glándulas. Además, la superficie que representa la vía transepidérmica es de 100 a 1000 veces mayor a la de la vía transfolicular y transudorípada. (Doménech, 1998). Debido a estas características la vía transpendicular normalmente ha poseído una menor importancia en la absorción de fármacos a través de sistemas de administración transdérmica, especialmente en la especie humana.

Estudios recientes empiezan a estar en desacuerdo con este supuesto. Tanto los anejos cutáneos como sus secreciones influyen de forma significativa en la absorción transdérmica de fármacos (Mills y Cross, 2006).

La absorción transepidérmica está controlada por el *stratum corneum* (en la epidermis), principal barrera en la absorción de un fármaco. Esta función se debe a su grosor, a la queratinización de las células y a la emulsión de lípidos neutros (el aumento de esteroides, ácidos grasos y ceramidas hacen más estable, cerosa e impermeable a la piel).

En el trabajo realizado por Elias (2006) se postula que, aunque el volumen del espacio intercelular es pequeño (1-10%), los lípidos intercelulares deben ser un factor importante en la absorción transcutánea junto al grosor y número de capas celulares que forman el *stratum corneum*.

Las moléculas polares y las no polares se difunden a través del *stratum corneum* por diferentes mecanismos. Las moléculas polares, mediante “puentes de agua” situados en zonas hidratadas del *stratum corneum*, consiguen atravesar la epidermis. Las moléculas no polares lo alcanzan a través de la matriz lipídica del *stratum corneum* (Ritschel y Hussain, 1988).

Se ha estimado una resistencia a la absorción de sustancias hidrofílicas por parte del *stratum corneum* de 1000 (Riviere y Papich, 2001). Fármacos muy lipófilos son absorbidos fácilmente por la epidermis. Sin embargo, la

dermis (capa muy acuosa) va a servir de barrera para estas sustancias, limitando su absorción sistémica y permitiendo que el *stratum corneum* sirva como reservorio (Riviere y Papich, 2001).

### **c. Factores que afectan la absorción cutánea**

En la administración de fármacos vía transdérmica existe una serie de elementos a tener en cuenta que van a afectar en la biodisponibilidad de éste.

Principalmente son:

- factores fisiológicos del animal.
- factores fisico-químicos.
- propiedades fisico-químicas del fármaco.

#### **c.1. Factores fisiológicos**

##### *Estado de la piel*

Hay poca información sobre la relación entre alteraciones en la piel y la absorción transdérmica de fármacos, aunque es razonable asumir que una pérdida progresiva del *stratum corneum* disminuirá las funciones de la piel (Riviere y Papich, 2001). Cualquier lesión en la piel, por un agente externo o por una enfermedad cutánea, podrá incrementar su permeabilidad. Monteiro-Riviere *et al.* (2001) demostraron un aumento de la pérdida de agua transepidermal a causa de una disminución de la función protectora de la piel, tras la extracción de lípidos intercelulares mediante diferentes solventes.

##### *Especie*

Se han realizado numerosos estudios para determinar la absorción transdérmica de diferentes compuestos en el hombre y diversas especies animales (Riviere y Papich., 2001). Para muchos compuestos la permeabilidad de la piel en las diferentes especies estudiadas, de mayor a menor absorción, es ratón >> rata/conejo > hombre/cerdo/primate.

Las diferencias en la absorción observadas entre las distintas especies y el hombre, pueden ser por diferentes factores. Entre ellos se incluye la profundidad de la piel, la densidad de folículos pilosos junto a la absorción a través de los apéndices cutáneos, y la composición lipídica de la piel (Magnusson, 2001).

##### *Región corporal y flujo sanguíneo*

Para la aplicación del sistema transdérmico debe tenerse en cuenta la posible accesibilidad del animal a este, eligiendo zonas que dificulten el acceso a este. Esta característica va a influenciar en la absorción de los fármacos, pues se ha observado diferencias en la penetración de fármacos entre distintas regiones corporales (Mills *et al.* 2004 y 2006).

Estudios realizados en humana han mostrado esta variación. En el hombre se pueden clasificar, de mayor a menor absorción cutánea, las siguientes regiones corporales: escroto > frente > axila > espalda/abdomen > palma de la mano y planta de los pies (Mills y Cross, 2006).

Las diferencias de absorción entre regiones corporales pueden ser debidas a diferencias en el flujo sanguíneo y al grosor de la piel. Está demostrado que el incremento en el flujo sanguíneo produce un aumento en la difusión de moléculas hacia el torrente sanguíneo. Esto hace aumentar el gradiente de concentración entre la piel y los tejidos, incrementando la absorción transdérmica (Ritschel y Hussain, 1988). En el hombre el flujo sanguíneo en la piel es, aproximadamente, de 5 mL/min por 100 g (Ritschel y Hussain, 1988).

Monteiro-Riviere *et al.* (1990) estudiaron el grosor y el flujo sanguíneo en diferentes especies animales. En él se determinaron diferencias entre las especies y en las distintas regiones corporales. El oído y el abdomen poseen un mayor flujo sanguíneo respecto al resto de regiones estudiadas. Por contra la zona glútea tiene un mayor grosor en la epidermis y el *stratum corneum*. En este estudio no se observaron correlaciones entre el flujo sanguíneo y el grosor de la piel, así para realizar comparaciones entre especies y regiones corporales estos parámetros deben evaluarse independientemente.

### *Metabolismo*

Diversos estudios han mostrado vías de metabolización en la piel. (Coomes *et al.*, 1983; Wester, 1983) La piel posee un efecto de primer paso en la metabolización de fármacos absorbidos transdérmicamente antes de llegar a la circulación sistémica (Wester, 1983; Ritschel y Hussain, 1988; Riviere y Papich, 2001). Esta metabolización no

solo ocurre en las células de la epidermis; también se produce en las células de los anejos cutáneos (Coomes *et al.*, 1983; Ritschel y Hussain, 1988).

El metabolismo va a disminuir la biodisponibilidad de los fármacos aplicados transdérmicamente, por ejemplo la biodisponibilidad de la nitroglicerina aplicada vía tópica es del 56,6 % cuando se compara con la administración intravenosa (Wester, 1983).

## **c.2. Factores físico-químicos**

### *Hidratación*

La hidratación del *stratum corneum* es un factor importante e influyente en la absorción transdérmica, ya que incrementa la permeabilidad de la piel a todas las sustancias, tanto las polares como las no polares. Chang *et al.* (1993) observaron un gran incremento en la absorción cutánea del paratión cuando la humedad relativa era superior al 80%.

Diversos mecanismos son responsables del incremento de la absorción transdérmica, entre ellos se encuentran, el aumento del tamaño de los poros, alteraciones físicas del tejido hidratado y cambios en el coeficiente de difusión de los fármacos (Ritschel y Hussain, 1988).

Las pieles deshidratadas facilitan la absorción cutánea por la pérdida y/o lesión de las diferentes capas que la forman.

### *Temperatura*

Aumentos de temperatura facilitan la absorción, por los efectos directos del incremento de temperatura, y por el aumento del flujo sanguíneo secundario a la vasodilatación de la circulación en la piel (Riviere y Papich, 2001).

### **c.3. Propiedades físico-químicas del fármaco**

Las propiedades físicoquímicas del fármaco pueden tener un impacto significativo en la liberación y absorción de este a través de la piel. La difusión de un fármaco en la piel va a depender de su peso y tamaño molecular, de las interacciones moleculares con los componentes de la piel, de su solubilidad, del grado de ionización (pKa) y de su coeficiente de partición (Brown, 2003).

La difusión de moléculas a través del *stratum corneum* está relacionada inversamente con su peso molecular. Compuestos con un elevado peso molecular, superior a 500 mmol, tienen una baja capacidad de difusión a través de la piel (Mills y Cross, 2006).

El grado de ionización y el gradiente de pH del medio también tienen un rol importante en la permeabilidad, solubilidad y difusión de fármacos en la piel. La difusión de las moléculas a través de membranas liposolubles incrementa cuando se encuentran no ionizadas (Brown, 2003). Este grado de ionización viene determinado por el pKa del fármaco y por el pH del medio.

Así bases débiles, como los opioides, estarán más ionizados a medida que el pH disminuye y se encontrarán menos ionizados a pH superiores, permitiendo una mayor o menor difusión. Este factor no solo debe tenerse en cuenta con la piel, también afectará a la difusión y solubilidad a través del vehículo portador del fármaco.

El coeficiente de partición es un valor que permite relacionar la afinidad de una molécula por un medio hidrófilo o hidrófobo, afectando el paso de los fármacos a través de las membranas fisiológicas (Brown, 2003; Mills y Cross, 2006). Fármacos lipófilos poseen un mayor coeficiente y una mayor capacidad para atravesar membranas fisiológicas. En las moléculas ionizadas, el coeficiente de partición de un fármaco entre una fase acuosa respecto a otra orgánica dependerá del pH del medio acuoso, así la forma no ionizada pasará por la membrana fisiológica. El logaritmo del coeficiente de partición en octanol/agua óptimo debe situarse entre 1 y 3 (Mills y Cross, 2006). En un principio, fármacos con un coeficiente de partición inferior a 0,1 no son buenos candidatos para ser administrados vía transdérmica porque van a tener dificultades para atravesar la epidermis. Fármacos con un coeficiente muy elevado, tienen tendencia a almacenarse en el *stratum corneum*, pues la dermis (más acuosa) va a dificultar su difusión (Riviere y Papich, 2001).

Otra característica influyente en la absorción es el punto de fusión de las moléculas. Fármacos con un elevado

punto de fusión se encuentran en forma cristalizada y tienen una menor absorción transdérmica (Stinchcomb *et al.*, 1996).

Finalmente, en el paso de sustancias a través de membranas debe aplicarse la ley de Fick. El número de partículas transferibles desde una región con una alta concentración a una con una menor concentración es proporcional al gradiente de concentración. Así, la cantidad de fármaco absorbido en un área durante un intervalo de tiempo determinado incrementará cuando aumenta la concentración del fármaco.

Teniendo en cuenta estos factores, un fármaco debe poseer las siguientes propiedades para ser administrado transdérmicamente: [Kaila, 2000; Budd (a), 2002; Böhme, 2002]:

- elevada permeabilidad a través de la epidermis y dermis.
- un adecuado coeficiente de solubilidad octanol/agua.
- bajo peso molecular, inferior a 500 Dalton.
- bajo punto de fusión.
- elevada potencia y alta afinidad por sus receptores, para asegurar la mayor eficacia de la porción de fármaco capaz de llegar a los receptores.
- prolongada duración en su acción.
- el fármaco y sus excipientes no sean irritantes para la piel, sobretodo en tratamientos crónicos.

#### **d. Sistemas desarrollados para la absorción transdérmica: Parches**

Hasta hace poco, la piel sólo era considerada una zona de aplicación de fármacos de acción local. La aparición de intoxicaciones por sustancias de administración tópica puso de manifiesto el interés de utilizar fármacos que, atravesando la piel, produzcan una acción sistémica (vía percutánea). Así, cada vez son más los fármacos administrados tópicamente mediante distintos dispositivos (oclusión, sistemas transdérmicos) capaces de proporcionar niveles sistémicos suficientemente altos como para lograr efectos analgésicos, antihipertensivos, antianginosos o de sustitución hormonal.

Los sistemas de administración transdérmica están constituidos por una estructura multilaminar polimérica donde el fármaco, contenido en un reservorio o bien dispersado en un material polimérico, se libera del mismo a una velocidad controlada o durante un período de tiempo establecido.

En todos los sistemas la capa distal es una lámina de cobertura y protección, sobre la cual se disponen uno o más estratos con la formulación del fármaco. La capa proximal está constituida por una película de adhesivo en contacto continuo con la piel, la cual no debe obstaculizar la liberación de los componentes activos.

En función del mecanismo de liberación del fármaco, los diferentes

diseños de los parches transdérmicos se pueden resumir en dos presentaciones:

### d.1. El fármaco está en un reservorio

El fármaco se encuentra dentro de un reservorio, envuelto externamente por una capa impermeable e internamente por una membrana y una capa adhesiva. En este caso, la membrana controla la velocidad global de liberación del fármaco siguiendo una cinética de orden cero. Fig. 18.

Su principal inconveniente es cuando se produce una rotura del reservorio y/o un daño en la membrana que regula la difusión, puede producir alteraciones en la velocidad de difusión del fármaco con posibles cuadros de toxicidad por sobredosis.

Este diseño lo encontramos en los parches de fentanilo.

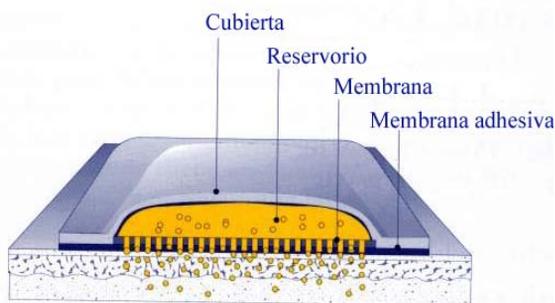


Fig.18. Sistema de administración transdérmica controlado por el reservorio.

### d.2. El fármaco está añadido dentro de la capa adhesiva o está en una matriz laminada

Diseño donde el fármaco está incorporado dentro de una matriz en el parche. Esta matriz puede hallarse en la capa adhesiva recubierta por otra capa adhesiva (sin fármaco) y por una capa impermeable. Con este sistema se consigue mantener una liberación continua del fármaco a través de la piel hacia la circulación sistémica. También es más difícil la aparición de cuadros tóxicos por una difusión errática del fármaco hacia la piel si se producen roturas y/o lesiones en la matriz. Fig. 19.

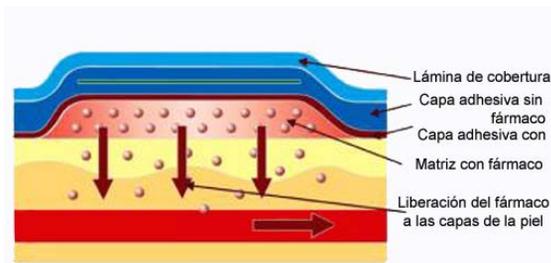


Fig. 19. Sistema de administración transdérmica matricial.

Este sistema no sigue una verdadera cinética de orden cero porque el fármaco más cercano a la piel es liberado rápidamente, mientras el fármaco situado en capas más profundas debe “acercarse” a esta para poder ser liberado. A pesar de ello, el diseño actual de los parches permite una liberación lenta del fármaco más cercano a la piel permitiendo obtener una cinética de orden cero (Wilkosz y Bogner, 2003).

Los parches de buprenorfina están diseñados con el sistema matricial imbuido en la capa adhesiva.

Las principales características de los parches respecto al resto de métodos de dosificación transdérmica son (Riviere y Papich, 2001):

1. Es un sistema oclusivo que hidrata el *stratum corneum* facilitando la absorción.
2. La mayoría de sistemas de administración transdérmica poseen uno o varios promotores de la permeabilidad para facilitar el paso del fármaco a través de la piel. Estos deben ser compatibles con el sistema polimérico y no deben interferir en la liberación del fármaco.
3. La proporción de fármaco liberado está directamente relacionado al área de superficie del parche. Se puede aumentar el área para conseguir mayores concentraciones plasmáticas.

Los parches transdérmicos ofrecen una serie de ventajas a tener en cuenta:

1. Evitan el entorno químico agresivo del medio gástrico (pH).
2. No presentan las contraindicaciones fisiológicas de la vía oral (vaciado gástrico, motilidad intestinal, interacción fármaco-alimento).
3. Evitan el efecto de primer paso que puedan sufrir los fármacos administrados por otras vías.

4. Permiten el uso de fármacos con margen terapéutico estrecho.
5. Permiten mantener las pautas de dosificación para conseguir niveles plasmáticos terapéuticos, evitando la aparición de picos plasmáticos presentes en otras vías de administración (intravenosa, subcutánea...).
6. Minimizan los efectos secundarios relacionados con los niveles plasmáticos máximos.
7. Puede interrumpirse su administración de inmediato.
8. Aumentan el grado de cumplimiento de la pauta de dosificación por parte del paciente.
9. Es una vía de administración no agresiva ni invasiva.

No obstante, la administración transdérmica de fármacos presenta inconvenientes a valorar, sobretodo cuando se pretende que sea una alternativa. Los principales inconvenientes pueden resumirse en:

1. No pueden utilizarse fármacos que requieran dosis elevadas.
2. Puede que no se adhiera a todos los tipos de piel y debe evitarse la pérdida de las propiedades de la capa adhesivas en presencia del fármaco o del promotor.
3. Puede utilizarse solamente con un número limitado de fármacos, principalmente liposolubles.
4. Los fármacos pueden sufrir metabolismo cutáneo.

5. El fármaco y/o la formulación pueden ocasionar irritación o sensibilización de la piel.

Finalmente un factor a tener en cuenta en veterinaria es el diseño de los parches, ideados para medicina humana. Por tanto características del parche como la liberación, disolución y difusión del fármaco a través del vehículo, la dosis de fármaco liberado, y la presencia de promotores de la permeabilidad han sido ajustadas a la piel humana.

#### **e. Utilización parches en veterinaria**

La administración vía transdérmica en veterinaria básicamente ha estado limitada a productos antiparasitarios y pesticidas, aunque recientemente y tras el desarrollo de los parches transdérmicos se han empezado a utilizar con otros fines, principalmente para la administración de analgésicos (fentanilo) y hormonas (testosterona) (Riviere y Papich, 2001).

Además de las particularidades descritas anteriormente, para poder aplicar un parche en un animal se aconsejan una serie de pautas (Hofmeister y Egger, 2004):

1. Debe aplicarse en una zona de difícil acceso, por ejemplo la zona dorsal o lateral del tórax, para evitar su extracción y posible ingestión. En caso necesario puede hacerse un vendaje de protección.

2. El área de aplicación debe ser rasurada y lavada con agua, evitando lesionar la piel.
3. Una vez colocado el parche en la piel debe presionarse este durante 1 minuto.

Se han realizado estudios para valorar la farmacocinética del parche de fentanilo en el perro y el gato (Scherk-Nixon, 1996; Hofmeister y Egger, 2004), en el caballo (Maxwell *et al.*, 2003; Thomasy *et al.*, 2004; Orsini *et al.*, 2006), en el cerdo (Wilkinson *et al.*, 2001; Malavasi *et al.*, 2005 y 2006), en la cabra (Carroll *et al.*, 1999) y en el conejo (Foley *et al.*, 2001).

En todos estos estudios se mantuvieron los parches un periodo de tiempo de 72 horas. Las concentraciones plasmáticas de fentanilo variaron según la especie, localización del parche y por variaciones individuales. A pesar de ello, no hubo ningún caso sin absorción transdérmica ni ausencia de fentanilo en plasma. Las concentraciones plasmáticas que se obtuvieron fueron superiores a la concentración mínima eficaz (CME) del fentanilo en la especie humana, demostrando efecto analgésico con escasos efectos adversos (Hofmeister y Egger, 2004; Thomasy *et al.*, 2004; Malavasi *et al.*, 2006).

Recientemente Murrell *et al.* (2007) ha estudiado la farmacocinética del parche de buprenorfina en la especie felina, obteniendo concentraciones plasmáticas similares a las concentraciones intravenosas, pero sin inducir analgesia.

## 2.4. BUPRENORFINA

### 2.4.1. Características generales

La buprenorfina, ([5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ (S)]-17-(ciclo-propilmetil)- $\alpha$ -(1,1-dimetil)-4,5-epoxi-18,19-dihidro-3-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -metil-6,14-etenomorfin-7-metanol), es un derivado semisintético de la tebaína, concretamente de las bases fenólicas conocidas como “oripavinas”.

La tebaína es uno de los componentes del opio, *Papaver somniferum*, con una elevada actividad analgésica.

La fórmula empírica de la buprenorfina es C<sub>29</sub> H<sub>41</sub> N O<sub>4</sub>. Tiene la estructura típica de los opioides, con un rasgo característico en el C-7; la presencia de un grupo butil. (Fig. 20). Este grupo coincide estructuralmente con el grupo fenil de las encefalinas (opioide endógeno) y contribuye en gran medida a la lipofilia de la molécula, [Budd (a), 2002] y en la afinidad hacia sus receptores. Su coeficiente en octanol/agua es de log K<sub>o/w</sub>= 2,9 (Stinchcomb *et al.*, 1996).

Entre las propiedades físico-químicas cabe destacar su bajo peso molecular, 467,64 mmol, (504,1 mmol, en forma de sal); es una base con un pKa entre 8,24 y 10 (Garrett y Chandran, 1985; Robertson *et al.*, 2003); y la base libre tiene un punto de fusión estimado en 218 °C (Stinchcomb *et al.*, 1996).

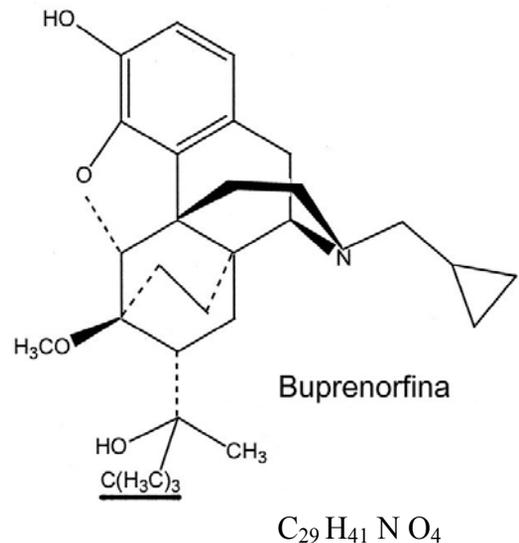


Fig. 20. Estructura molecular de la buprenorfina. C-7 contiene un grupo butil (subrayado).

#### a. Presentación comercial

La buprenorfina fue por primera vez sintetizada en 1966, mostrando una acción antinociceptiva en animales, pero no se comercializó para medicina humana hasta 1978 (en UK) como forma inyectable. En 1981 se desarrolló en tabletas sublinguales (Cowan, 2003) y desde el 2001 se puede utilizar como parche transdérmico (www.grünenthal.com).

La buprenorfina se comercializa en España con los nombres de BUPREX®, SUBUTEX® (Schering-Plough, S.A.), TRANSTEC®, y TRIQUISIC® (Grünenthal, S.A.). Se presenta en ampollas de 0,3 mg, comprimidos sublinguales de 0,2, 0,4, 2 y 8 mg y parches transdérmicos de 35, 52,5 y 70 µg/h. También existe una presentación comercial en forma de comprimidos

sublinguales de buprenorfina y naloxona, con el nombre de SUBOXONE® (Schering-Plough, S.A.).



Fig. 21. Envases y presentaciones de la buprenorfina en España.

### b. Mecanismo de acción

La cinética de las diferentes moléculas en sus receptores se puede definir según la unión (afinidad) y la capacidad de activar a dichos receptores (actividad intrínseca). Así los fármacos agonistas poseen afinidad y actividad intrínseca en los receptores; los antagonistas tienen afinidad por los receptores, pero no actividad intrínseca; y los agonistas parciales tienen afinidad a los receptores pero la activación de estos no produce el 100% de la respuesta.

La buprenorfina es un agonista parcial de los receptores  $\mu$  (mu) [Martin

*et al.*, 1976; Cowan *et al.* (b), 1977; Leander, 1988], antagonista de los receptores  $\kappa$  (kappa) [Cowan *et al.* (b), 1977; Leander, 1988] y débil agonista de los receptores  $\delta$  (delta) [Budd (a), 2002].

Aunque se ha demostrado que la buprenorfina actúa en los receptores  $\kappa$  y  $\delta$ , la acción analgésica se debe, principalmente, a la unión a los receptores  $\mu$  [Cowan *et al.* (a), 1977], actuando como un agonista parcial, con una elevada afinidad (25-30 veces superior respecto a la morfina [Cowan *et al.* (b), 1977 ; Heel *et al.*, 1979]), una moderada actividad intrínseca, 1/3 de la morfina (Martin *et al.*, 1976), y una lenta disociación a estos receptores (Villiger y Taylor, 1981; Boas y Villiger, 1985).

A pesar de ser un fármaco muy liposoluble y debido a la cinética hacia sus receptores, se ha observado un inicio de acción lento y una larga duración en sus efectos (entre 15-90 min.), independientemente de la vía de administración y la especie [Edge *et al.*, 1979; Gundersen *et al.*, 1986, Hellebrekers (b), 2000; Robertson *et al.*, 2005]. La lenta disociación de la buprenorfina a sus receptores puede explicar la prolongada duración de su efecto, apreciando analgesia efectiva de 4-8 horas post-administración [Cowan *et al.* (a), 1977; Harcus *et al.*, 1979; Carroll, 1998; Lascelles, 2000].

El efecto analgésico de la buprenorfina varía según la dosis administrada, y a dosis menores se ha observado un mayor efecto [Cowan *et*

*al* (b)., 1977; Heel, 1979]. Dum y Herz (1981) demostraron el máximo efecto antinociceptivo cuando el 95% de los receptores están ocupados por la buprenorfina. Debido a la acción de agonista parcial, la buprenorfina puede presentar una curva sigmoidea (con efecto techo), ya que la actividad intrínseca en estos receptores no es del 100%. Estudios realizados en humanos han mostrado que el efecto analgésico de la buprenorfina sigue una curva sigmoidea, con un punto a partir del cual no aumenta la analgesia a pesar de aumentar las dosis [Budd (a), 2002]. También se ha caracterizado, mediante estudios dosis-respuesta en diferentes especies, una curva de U invertida observando a dosis elevadas una disminución de sus efectos [Cowan *et al.* (b), 1977]; Dum y Herz, 1981; Meert *et al.*, 2005].

Existen diversas hipótesis para explicar la curva en U invertida y/o el efecto techo de la buprenorfina. La hipótesis que más prevalecía, hasta el momento, implicaba una autoinhibición no competitiva entre los diferentes receptores opiáceos (Dum y Herz, 1981; Sadée *et al.*, 1982; Leander, 1988; Slingsby *et al.*, 2006). Según este modelo una clase de receptores son saturados durante la fase agonista de la curva (a dosis bajas). A dosis mayores aparece la fase antagonista por una saturación de diferentes receptores. Así a partir de una dosis no se produce un aumento en el efecto del fármaco. La buprenorfina a dosis bajas produce analgesia (fase agonista) al tener una elevada afinidad por los receptores  $\mu$ ; pero al ir aumentando la dosis, la

actividad de los receptores  $\kappa$  va a prevalecer, provocando un descenso en la analgesia. Este fenómeno se aprecia mediante la curva en U invertida.

La segunda hipótesis, cada vez con mayor importancia, explica la baja eficacia de la buprenorfina y la presencia de la curva en U invertida, a la unión y activación de esta a los receptores ORL (Opioid Receptor-Like) (Bloms-Funke *et al.*, 2000; Lutfy *et al.*, 2003). La activación de los receptores ORL-1 por péptidos de opioides endógenos disminuye la analgesia inducida por los opioides (Henderson y Mc Knight, 1997). Estos receptores están distribuidos por el SNC, el sistema inmune, intestino, vasos deferentes y bazo (Meunier *et al.*, 1995). Según esta hipótesis la activación de los ORL-1 supraespinales disminuye la acción antinociceptiva de la buprenorfina.

Lutfy *et al.* (2003) confirmaron esta hipótesis al comparar la nocicepción de la buprenorfina en ratas sanas y en ratas con ausencia del receptor ORL-1 (modificadas genéticamente). En él, se observa la presencia de efecto techo y de curva en U invertida tras la administración de buprenorfina en las ratas sanas y ausencia de estos en las ratas sin ORL-1. Además, para confirmar estos hallazgos, en ratas sanas se les inyectó J-113397 (un antagonista específico de los receptores ORL-1), observando los mismos efectos descritos en las ratas sin ORL-1.

Un inconveniente de tener una elevada afinidad y lenta disociación por

los receptores  $\mu$  es la aparición de efectos secundarios, pues la dosis de naloxona para revertirlos debe ser muy elevada (Gal, 1989).

Debido a estos factores la buprenorfina manifiesta una cinética inusual en los receptores, con las siguientes características:

- posee una acción de larga duración, al tener una lenta disociación a los receptores [Villiger y Taylor, 1981; Boas y Villiger, 1985; Budd (a), 2002].
- cuando es retirada bruscamente se aprecia en muy pocas ocasiones síndromes de abstinencia (Evans y Easthope, 2003).
- una vez unida a los receptores es muy difícil antagonizar sus efectos con un antagonista puro [Cowan *et al.* (a), 1977; Gal, 1989].
- el inicio de la acción analgésica es lento (Carroll, 1998; Lascelles, 2000; Robertson *et al.*, 2005).
- la probabilidad de desarrollar dependencia, en tratamientos agudos o crónicos, es muy baja (Zaki, 2000).

Diversos estudios han comparado las concentraciones plasmáticas de la buprenorfina, tras la administración de un bolo intravenoso, y la aparición, duración y efecto analgésico de esta [Nolan *et al.*, 1987; Ohtani *et al.*, 1995; Robertson *et al.*, 2005; Yassen *et al.*, 2005; Yassen *et al.*, 2006 (a y b)]. En estos trabajos puede observarse una ausencia de correlación entre las

concentraciones plasmáticas en sangre y el efecto analgésico.

Después de la administración intravenosa de un bolo de buprenorfina y durante los primeros 5-10 minutos las concentraciones plasmáticas son elevadas mientras la analgesia es baja. A medida que transcurre el tiempo, las concentraciones en sangre van disminuyendo y la analgesia va aumentando. Finalmente, la analgesia de la buprenorfina va disminuyendo con pequeños descensos plasmáticos. Este fenómeno es denominado histéresis y diversos opioides lo padecen (Fig. 22).

Una característica de la histéresis es la discrepancia entre la  $C_{max}$  y el máximo efecto del fármaco. Robertson *et al.* (2005) tras la administración IV de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de buprenorfina en gatos, observaron la  $C_{max}$  a los 5 min. y el máximo efecto antinociceptivo a los 90 min. Resultados similares están descritos en diferentes especies y dosificaciones [Nolan *et al.*, 1987; Yassen *et al.*, 2005; Yassen *et al.*, 2006 (b)].

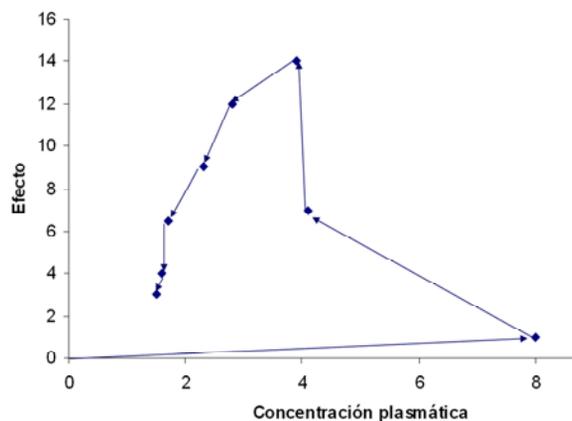


Fig. 22. Gráfico representativo del fenómeno de histéresis.

## 2.4.2. Efectos adversos

Las características físico-químicas de la buprenorfina (lenta asociación-disociación a sus receptores, actividad de agonista parcial en los receptores  $\mu$ , presencia de efecto techo...) han facilitado la utilización de dicho fármaco en humana y en veterinaria, al ser considerada más segura respecto al resto de opioides, pues sus efectos son generalmente leves. No obstante, no está exenta de efectos adversos.

### a. Sistema respiratorio

Todos los opioides  $\mu$  agonistas producen una reducción dosis-dependiente en la respuesta de los centros respiratorios cerebrales a incrementos de  $p\text{CO}_2$  y deprimen en la médula los centros reguladores de la frecuencia respiratoria. Se produce una disminución en la frecuencia respiratoria, se prolonga la apnea entre respiraciones, y aparece una ligera disminución del volumen tidal y un incremento de la presión parcial de  $\text{CO}_2$  (Meert y Vermeirsch, 2005).

En algunos test, la buprenorfina (como la morfina) disminuye la frecuencia respiratoria, incrementa la presión arterial de  $\text{CO}_2$  y disminuye la presión arterial de  $\text{O}_2$  [Cowan *et al.* (a), 1977; Heel *et al.*, 1979; Lizasoain, 1990; Meert y Vermeirsch, 2005], pero a diferencia de la morfina, con una clara relación dosis-respuesta, la depresión respiratoria inducida por la buprenorfina no presenta dicha relación y parece alcanzar un efecto techo a una dosis cercana a 0.1 mg/kg, a partir de la

cual dosis mayores producen el mismo o menor grado de depresión (curva en forma acampanada) (Meert y Vermeirsch, 2005).

Debido a estas características es considerada un fármaco seguro en el sistema respiratorio, sobretodo en caso de sobredosificación. Sin embargo, a pesar de su elevada seguridad, como tiene especialmente una fuerte afinidad y lenta disociación a sus receptores (Villiger y Taylor, 1981; Boas y Villiger, 1985), cuando aparece una depresión respiratoria secundaria a la administración de buprenorfina, la naloxona no la revierte completamente.

A parte de los efectos directos en el sistema respiratorio, en la especie humana hay descritas interacciones entre la buprenorfina y el diazepam con un desenlace fatal. En Francia se han referido muertes por depresión respiratoria en pacientes toxicómanos tratados con buprenorfina y diazepam. También, han sido descritos aumentos en el grado de depresión respiratoria durante el peri-operatorio en pacientes premedicados con estos dos fármacos (Nielsen y Taylor, 2005). El mecanismo exacto de esta interacción no se conoce; Elkader y Sproule (2005) proponen una interacción farmacodinámica (aditiva o de sinergismo) capaz de potenciar la depresión respiratoria de los dos productos.

### b. Sistema cardiovascular

Los efectos de los opioides varían según la especie, vía de administración, tipo de preparación y tipo de opioide. Principalmente pueden producir

bradicardia, mediada por un aumento del tono vagal, y vasodilatación (Papich, 2000).

Estudios realizados en humana [Heel *et al.*, 1979; Lizasoain, 1990; Budd (a), 2002], en el perro [Cowan *et al.* (a), 1977; Sanders *et al.*, 1992; Brodbelt *et al.*, 1997; Martínez *et al.*, 1997; Slingsby *et al.*, 2006], en el gato (Möllenhoff *et al.*, 2005), en ratas [Martin *et al.*, 1976; Cowan *et al.* (a), 1977], y en caballos (Szoke *et al.*, 1998), muestran una disminución en la frecuencia cardiaca y la presión arterial después de la administración de buprenorfina. Aunque en algunos estudios estos cambios han tenido significación estadística han sido de poca relevancia, considerando a la buprenorfina como un fármaco seguro cardiovascularmente.

### **c. Sistema nervioso central y periférico**

Como se ha mencionado anteriormente, los opioides en el SNC pueden producir excitación o sedación. Generalmente estos efectos no son severos y no suelen ser una contraindicación para evitar su uso. Los mecanismos de la excitación todavía no están bien descritos. Entre las posibles causas, la estimulación de una respuesta dopaminérgica y/o adrenérgica son las de mayor importancia (Papich, 2000).

Diversos estudios han intentado valorar si la buprenorfina produce sedación en el perro (Jacobson *et al.*, 1994; Brodbelt *et al.*, 1997; Slingsby *et al.*, 2006) y en el gato (Dobbins *et al.*, 2002; Stanway *et al.*, 2002; Möllenhoff

*et al.*, 2005), obteniendo una moderada sedación durante el postoperatorio. En todos estos trabajos junto a la buprenorfina se administró un sedante/tranquilizante. Jacobson *et al.* (1994) utilizaron diferentes fármacos combinados durante la premedicación y obtuvieron una mayor sedación en animales premedicados mediante la combinación de buprenorfina y acepromacina respecto a la combinación de buprenorfina y midazolam.

En humana la buprenorfina produce en el SNC y SNP efectos similares a los opioides puros. Los más comunes tras la administración de un bolo de buprenorfina son somnolencia (4,3%) y mareos (1,2%). En tratamientos crónicos los principales son la desorientación (5,3%) y las alucinaciones (2.4%) [Bud (a), 2002].

### **d. Sistema gastrointestinal**

Muy pocos estudios valoran la acción de la buprenorfina en el sistema gastrointestinal. En ratas Cowan *et al.* (a) (1977) y Meert y Vermeirsch (2005) observaron una disminución de la motilidad gastrointestinal dosis-dependiente con la aparición de una curva en forma de U invertida. La máxima disminución de la motilidad se obtuvo a dosis de 1 mg/kg, dosis inferiores o superiores produjeron una menor disminución de la motilidad intestinal. En caballos Carregaro *et al.* (2006) tras la administración IV de 10 µg/kg describieron una disminución de la motilidad intestinal durante las 4 primeras horas. Sin embargo,

Möllenhoff *et al.* (2005) no apreciaron alteraciones gastrointestinales tras la administración IV de 10 µg/kg en gatos. Estas divergencias pueden ser debidas a la utilización de diferentes especies o a que Cowan *et al.* (b) (1977) y Meert y Vermeirsch (2005) utilizaron una prueba específica para evaluar la motilidad gastrointestinal, mientras el resto solo valoraron la defecación y/o auscultaron la motilidad gastrointestinal.

A diferencia de las especies animales, en personas los principales efectos secundarios de la buprenorfina se producen en el sistema gastrointestinal. Tras la administración IV y sublingual los dos síntomas más importantes son las náuseas con una incidencia de 8,8% y los vómitos con una incidencia del 7,4%. En la administración crónica la incidencia de náuseas es del 6,5% y de vómitos de 3,5%. Estas diferencias son secundarias a la velocidad de administración y a la concentración plasmática, pues en la administración IV la concentración plasmática es mayor y más rápida [Budd (a), 2002].

Después de las náuseas y vómitos, el estreñimiento es el efecto secundario con mayor incidencia tras la administración aguda o crónica, pero se presenta con una incidencia muy baja (inferior al 5%) [Budd (a), 2002].

#### **e. Efectos sobre otros órganos o sistemas**

La mayoría de los opioides producen una inmunosupresión por activación del sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal, activación del SNS y por unión directa a

receptores opiáceos en los linfocitos [Budd (a), 2002; Martucci *et al.*, 2004]. Diferentes estudios en animales muestran que la buprenorfina no produce inmunosupresión de forma directa [Van Loveren *et al.*, 1994; Hanson *et al.*, 2001; Budd (b), 2002; Martucci *et al.*, 2004], aunque puede producir alteraciones inmunológicas de forma indirecta (Van Loveren *et al.*, 1994; Hanson *et al.*, 2001).

La adicción o dependencia a los opioides, relacionada a la actividad de los receptores  $\mu$ , es ampliamente conocida y se expresa principalmente por la conducta de las personas y/o animales para buscar una nueva dosis del fármaco y poder experimentar sus efectos físicos, o para evitar las sensaciones desagradables producidas por la abstinencia del opioide. Debido a la acción de agonista parcial de los receptores  $\mu$ , los efectos adictivos de la buprenorfina son menores comparado a los agonistas puros (Zaki *et al.*, 2000). La buprenorfina tiene una lenta disociación de sus receptores por lo que la duración de sus efectos es prolongada y el síndrome de abstinencia asociado a la administración de opioides es menos severo y de aparición más tardía (Elkader y Sproule, 2005; Johnson *et al.*, 2005). Estas características hacen de la buprenorfina un fármaco válido para el tratamiento de deshabitación en enfermos toxicómanos o con dolor crónico (Davis, 2005; Elkader y Sproule, 2005; Johnson *et al.*, 2005).

Los estudios teratológicos practicados en la rata y el conejo han permitido concluir que la buprenorfina no es

embriotóxica ni teratogénica., aunque si se ha observado un ligero aumento de muertes intrauterinas y post-parto, y una aparición de anomalías musculoesqueléticas tras la administración IM y oral (Heel *et al.*, 1979; Johnson *et al.*, 2005). En medicina humana existen muy pocos datos sobre el efecto en el feto durante la gestación, pero se ha apreciado una mayor concentración en el meconio, cordón umbilical y en plasma de los neonatos respecto al materno (Elkader y Sproule, 2005). También hay descritos ligeros síndromes de abstinencia en hijos cuyas madres han tomado buprenorfina durante la gestación y/o lactación, ya que puede atravesar la barrera placentaria, es eliminada a través de la leche materna y porque la capacidad de metabolización hepática de los neonatos es menor (Elkader y Sproule, 2005).

Finalmente tras la aplicación de parches de buprenorfina de 35, 52.5 y 70  $\mu\text{g}/\text{h}$  en personas, se produce una miosis dosis-dependiente entre las 36 - 72 horas (Evans y Easthope, 2003).

#### **2.4.3. Farmacocinética de la buprenorfina**

La buprenorfina se ha convertido en un analgésico muy utilizado en la veterinaria clínica en estos últimos años por producir una buena analgesia contra el dolor moderado-leve, por la duración tras su administración y por sus limitados efectos secundarios.

La farmacocinética de la buprenorfina ha sido ampliamente estudiada tanto en

humanos como en animales. Los estudios farmacocinéticos existentes se han realizado empleando distintas vías de administración. Han sido testadas la vía intravenosa en bolo único (Bullingham *et al.*, 1980; Nolan *et al.*, 1987; Kuhlman *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 2005), la infusión continua IV (Garrett y Chandran, 1990; Hand *et al.*, 1990; Yassen *et al.*, 2005), la vía oral (Kuhlman *et al.*, 1996), bucal (Kuhlman *et al.*, 1996; Robertson *et al.*, 2003), y transdérmica [Terlinder y Stadler, 2000 (a), (b); Murrell *et al.*, 2007].

Diferentes modelos, compartimentales y no compartimentales, han sido descritos tras la realización de estos estudios. Entre los modelos compartimentales, los más descritos tras la administración intravenosa de buprenorfina, se han postulado tanto el modelo bicompartimental como el tricompartmental, siendo este último el que mejor puede explicar las diversas curvas plasmáticas observadas (Bullingham *et al.*, 1980; Nolan *et al.*, 1987; Yassen *et al.*, 2005).

En un modelo tricompartmental pueden diferenciarse tres fases (Fig. 23 y 24). Durante la primera fase y debido a la liposolubilidad de la buprenorfina, el fármaco rápidamente es distribuido hacia los tejidos más vascularizados (SNC, hígado...) o compartimento central. Desde este compartimento se elimina el fármaco del organismo, mediante la metabolización y/o excreción, a una velocidad ( $K_e$ ).

Posteriormente presenta una redistribución hacia tejidos periféricos y menos vascularizados (grasa, músculo...) o compartimento periférico, donde va a producirse una liberación más lenta del fármaco. Finalmente existe un tercer compartimento periférico, con una distribución y eliminación del fármaco más lenta respecto al primer compartimento periférico.

Una característica de la buprenorfina en la administración no parenteral

(sublingual y transdérmica) es la presencia de un efecto “depot” en los tejidos por los que se absorbe [Kuhlman *et al.*, 1996; Terlinder y Stadler, 2000 (a), (b); Elkader y Sproule, 2005], pudiendo influenciar en la farmacocinética/dinamia del fármaco. Kuhlman *et al.* (1996) propusieron un modelo tricompartmental con un efecto “depot” en la absorción sublingual de la buprenorfina, donde la ratio desde el lugar de almacenamiento hacia el compartimento central es menor que la constante de eliminación del fármaco.

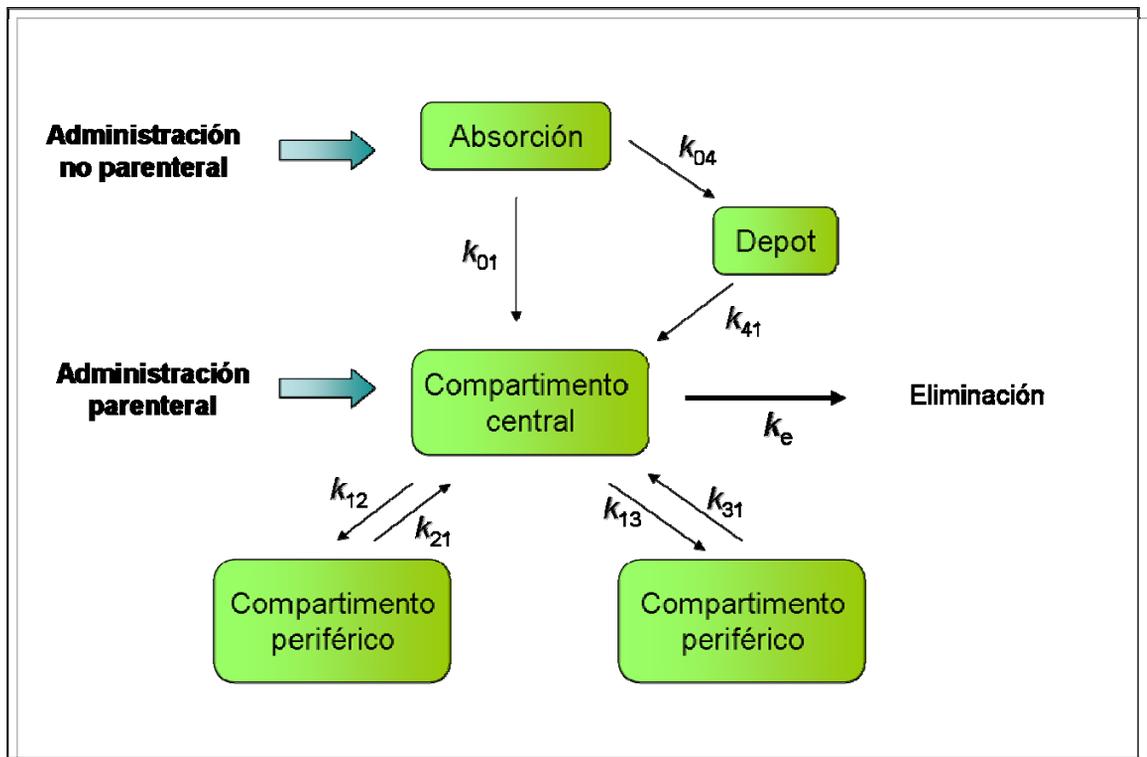


Fig. 23. Esquema farmacocinético de un modelo tricompartmental.

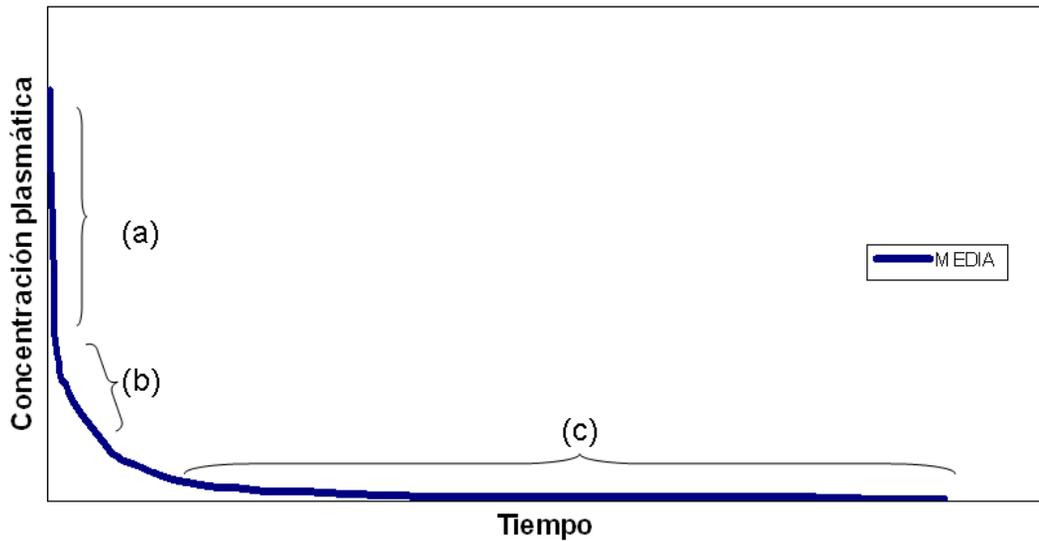


Fig. 24. Gráfica concentración plasmática-tiempo en un modelo tricompartmental. Pueden apreciarse tres pendientes representativas de la eliminación y distribución en el compartimento central (a), la distribución/eliminación en el primer compartimento periférico (b) y la distribución/eliminación en el segundo compartimento (c).

En la tabla 5 se muestran los principales parámetros farmacocinéticos, obtenidos por diferentes

autores, bajo distintas situaciones de estudio y en diferentes especies.

Estudio	Especie	Vía Adm.	Volumen de distribución (L/Kg)	Clearance (mL/Kg/min)	Tiempo de eliminación (min)
Bullingham <i>et al.</i> 1980	Humana	IV	2.8	18.8	183
Kuhlman <i>et al.</i> 1996	Humana	IV	4.95	18.9	295.2
		IM	2.19	14.7	138.6
		Oral	82.74	175.36	1140
		SL	99.76	51.83	1663.2
Gopal <i>et al.</i> 2002	Rata	IV	14.5	75.3	294
Yu <i>et al.</i> 2006	Ratón	IV	6.5	71.8	768
Nolan <i>et al.</i> 1987	Ovina	IV	4.6	29.7	121
Ho <i>et al.</i> 1991	Conejo	IV	N.D.	29.65	232
Garrett y Chandran 1990	Canina	IV (infusión)	30.7	8.84	N.D.
Taylor <i>et al.</i> 2001	Felina	IV	7.1	16.7	417
Robertson <i>et al.</i> 2003	Felina	Mucosa oral	3.4	8.5	347
Robertson <i>et al.</i> 2005	Felina	IV	4.8	9.3	368.3

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos de la buprenorfina. (N.D.= No determinado).

### a. Absorción

Debido a las características fisico-químicas de la buprenorfina cuando es administrada por vía no parenteral, esta es absorbida rápidamente en los tejidos del organismo, pero dependiendo de la vía se han observado variaciones en la biodisponibilidad y en la velocidad de absorción, al sufrir un metabolismo de primer paso y/o al efecto “depot” de los tejidos [Kuhlman *et al.*, 1996; Garrett y Chandran, 1990; Terlinder y Stadler, 2000 (a), (b); Elkader y Sproule, 2005].

En la tabla 6 se muestran las biodisponibilidades, tras la administración de buprenorfina, obtenidas por algunos autores en diferentes situaciones y especies. La vía con una menor biodisponibilidad es la oral, debido a la degradación de la buprenorfina en hígado y en la pared intestinal (Rance y Shillingford, 1976; Brewster *et al.*, 1981).

En el perro, después de la administración oral de buprenorfina, aproximadamente el 60% del fármaco sufrió una metabolización de primer paso a través del hígado; presentando una biodisponibilidad del 6% (Garrett y Chandran, 1990).

Tras la administración sublingual pueden observarse diferencias

significativas entre estudios en las especies humana y felina. Robertson *et al.* (2005) describieron que las divergencias observadas se deben al pH de la saliva. En humanos el rango de pH de la saliva oscila entre 5,39-7,46, mientras que en los gatos es de 8-9. La absorción sublingual o transmucosa oral será mayor en la especie felina porque la buprenorfina es una base débil (pKa de 8,24). En un medio alcalino las bases se hallan en su forma no ionizada, facilitando la absorción de este hacia los tejidos. Esta característica también puede explicar el aumento de la velocidad de absorción en la especie felina respecto a las personas. El retardo en la absorción sublingual observado en las personas puede ser por la presencia de un reservorio o “depot” en la mucosa oral (Kuhlman *et al.*, 1996; Elkader y Sproule, 2005).

Tras la administración transdérmica la absorción de buprenorfina describe dos fases. En la primera la concentración plasmática incrementa progresivamente con un periodo de latencia de 12-24h. Tras esta se produce un aumento lento de la concentración plasmática ( $\approx$  26 horas) hasta alcanzar la  $C_{max}$ . Esta segunda fase es el resultado de la liberación de buprenorfina a partir de un reservorio subcutáneo [Terlinder, 2000 (a)].

Estudio	Especie	Vía Adm.	F (%)	t <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ng/mL)
Bullingham <i>et al.</i> 1980	Humana	IM	100	0.08	N.D.
Bullingham <i>et al.</i> 1982	Humana	SL	55.7 ± 6.0	3.5 ± 0.67	0.43 ± 0.06
Kuhlman <i>et al.</i> 1996	Humana	Oral	27.8 ± 8.9	0.81 ± 0.17	1.98 ± 0.55
		SL	51.4 ± 13.2	0.71 ± 0.08	3.31 ± 0.81
Grünenthal GmbH*	Humana	Transdérmica	≈ 50	57 ± 15	0.31 ± 0.12
Brewster <i>et al.</i> 1981	Rata	SL	13	N.D.	N.D.
Lindhart <i>et al.</i> 2000	Ovina	Intranasal	89 ± 23	0.15 ± 0.1	48 ± 10
Robertson <i>et al.</i> 2003	Felina	Mucosa oral	100	0.25	7.5
Robertson <i>et al.</i> 2005	Felina	Mucosa oral	116.3	0.5	12.5

Tabla 6. Biodisponibilidad y velocidad de absorción de la buprenorfina. \* Datos obtenidos de Grünenthal. (F = Biodisponibilidad; t<sub>max</sub> = tiempo en alcanzar la concentración máxima; C<sub>max</sub> = concentración máxima; N.D. = No determinado).

## b. Distribución

La buprenorfina sigue una distribución hacia los diferentes organismos y tejidos similar a fármacos de elevada lipofilia. En la tabla 5 puede apreciarse esta característica, ya que independientemente de la vía de administración, el volumen de distribución de la buprenorfina es mucho más elevado si se compara con los volúmenes fisiológicos.

Tras la administración oral e IM de buprenorfina en ratas y en monos los niveles de buprenorfina y sus metabolitos en el hígado fueron elevados (10 y 40 min. respectivamente) (Heel *et al.*, 1979). Por otro lado, Ohtani *et al.* (1994 y 1997) encontraron elevadas concentraciones de buprenorfina en el encéfalo de ratas a los 2 min. tras la administración IV de dicho fármaco, alcanzando niveles máximos a los 10

min. Estos hallazgos inducen a pensar que la buprenorfina tiene una rápida distribución hacia órganos muy vascularizados (hígado y cerebro). Esta característica facilitaría el metabolismo hepático de primer paso descrito en la buprenorfina.

Estudios *in vitro* con plasma humano, han demostrado una unión de la buprenorfina a las proteínas plasmáticas de un 96%, principalmente a las  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas (Heel *et al.*, 1979).

## c. Metabolismo

El metabolismo de la buprenorfina parece ser similar en todos los mamíferos estudiados.

Principalmente la buprenorfina es metabolizada a norbuprenorfina (N-dealquil buprenorfina). Tras diversos estudios *in vitro*, con microsomas

hepáticos humanos, se ha demostrado una elevada correlación entre la actividad N-dealquilación del citocromo P450 (CYP) 3A4 y la formación de norbuprenorfina. (Kobayashi *et al.*, 1998; Umehara *et al.*, 2002).

Tanto la buprenorfina como la norbuprenorfina son metabolizadas mediante una glucoronidación en un metabolito inactivo, la buprenorfina conjugada o glucurónido de buprenorfina, y en la norbuprenorfina conjugada. Esta conjugación parece tener lugar en la pared intestinal y, principalmente, en el hígado. (Rance y Shillingford, 1976; Brewster *et al.*, 1981).

La norbuprenorfina es un metabolito activo pero con un 1/3 - 1/4 de la potencia analgésica de la buprenorfina (Ohtani *et al.*, 1994; Huang *et al.*, 2001). En el cerebro los niveles de norbuprenorfina son muy bajos (Ohtani *et al.*, 1994 y 1997) y podemos considerar que los efectos analgésicos cerebrales están mediados por la interacción de la buprenorfina con los receptores  $\mu$  cerebrales sin actuación de la norbuprenorfina. Aunque este metabolito tiene una débil acción analgésica, Ohtani *et al.* (1994 y 1997) mostraron una potente actividad depresora del sistema respiratorio (10 veces superior a la buprenorfina). Por tanto, la ligera depresión respiratoria

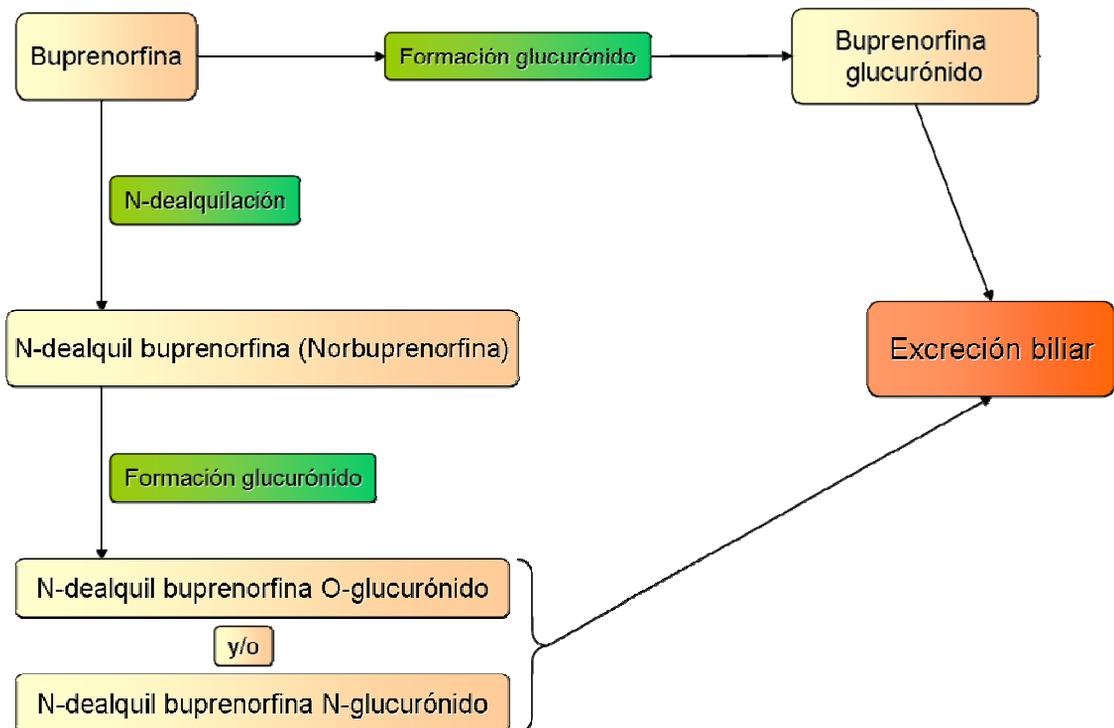


Fig. 25. Esquema representativo de la metabolización de la buprenorfina.

asociada a la administración de buprenorfina estará mediada por la interacción de la norbuprenorfina con los receptores mu pulmonares y no por la acción directa de la buprenorfina.

Si la buprenorfina es metabolizada por el citocromo P450 (CYP) 3A4 fármacos que utilizan o interaccionan con dicho citocromo podrán producir interacciones farmacológicas entre ellos. Se incluyen como fármacos bloqueantes de la degradación de la buprenorfina, logrando intensificar la acción de esta, algunos antidepresivos con fluoxetina, norfluoxetina o fluvoxamina; antiinfecciosos como la eritromicina, metronidazol, norfloxacino, fluconazol o ketoconazol; medicamentos para el tratamiento del VIH como el ritonavir, indinavir o saquinavir; anticonceptivos orales con gestodeno; antiarrítmicos con amiodarona; y medicamentos para el tratamiento de las úlceras estomacales con omeprazol. Dentro de los fármacos capaces de aumentar la degradación de la buprenorfina se incluyen ciertos productos para el tratamiento de la epilepsia como la carbamazepina, fenobarbital, fenitoína o primidona; y antiinfecciosos como la rifabutina o rifampicina (Elkader y Sproule, 2005; AEMPS, 2006).

#### **d. Eliminación**

La principal vía de eliminación de la buprenorfina, independientemente de la vía de administración, son las heces; entre un 56%-93% en diferentes especies animales y entre un 68-71% en

la especie humana (Heel *et al.*, 1979; Garrett y Chandran, 1990).

Aproximadamente de un 10-30% de la dosis administrada es eliminada vía renal.

Por las heces se eliminan principalmente buprenorfina y norbuprenorfina no conjugada, mientras que parte de los metabolitos conjugados lo hacen vía renal (Heel *et al.*, 1979; Elkader y Sproule, 2005). Es probable que la mayor parte de los metabolitos conjugados de la buprenorfina y norbuprenorfina se excreten al intestino delgado vía biliar. A este nivel la flora intestinal hidroliza estos metabolitos y a través de la circulación entero-hepática son definitivamente eliminados por las heces en su forma no conjugada (Garrett y Chandran, 1990; Elkader y Sproule, 2005).

En el perro la buprenorfina fue eliminada por la bilis, en forma de buprenorfina conjugada (Garrett y Chandran, 1990). También se observó un paralelismo en los descensos de los niveles plasmáticos de buprenorfina y buprenorfina conjugada, indicando una rápida conjugación hepática y que una pequeña porción del metabolito pasa a circulación sanguínea, mientras la gran mayoría de este es eliminado lentamente por la bilis.

En animales con una cánula en el conducto biliar no se detectaron concentraciones plasmáticas de buprenorfina conjugada, sin embargo cuando se les retiró el catéter el metabolito reapareció en plasma. Esta

recirculación entero-hepática de los metabolitos fue confirmada tras la administración intraduodenal de buprenorfina conjugada (Garrett y Chandran, 1990).

En tratamientos de corta duración, la función renal alterada no afecta a la excreción de la buprenorfina (Hand *et al.*, 1990; Deng *et al.*, 2000). A pesar de no haber estudios para valorar la farmacocinética de la buprenorfina durante un periodo de tiempo prolongado en enfermos con alteraciones renales, Elkader y Sproule (2005) postulan que en estos casos debería producirse una acumulación de los metabolitos en plasma. A pesar de ello, debido a la escasa acción de la norbuprenorfina en el SNC, la administración prolongada de buprenorfina no debería producir alteraciones clínicas muy importantes.

Garrett y Chandran (1990) describieron variaciones en la "clearance" renal de la buprenorfina a diferentes pH. Cuando el pH era mayor de 7 la "clearance" renal descendió y a pH = 7,3 se produjo una reabsorción completa de la buprenorfina en los túbulos renales. Según los autores, como la eliminación renal de buprenorfina es muy baja, los cambios de pH no tendrán efectos significativos en la farmacocinética de la buprenorfina.

En la tabla 5 puede apreciarse una variación en los tiempos de eliminación de la buprenorfina; sin embargo todos ellos son elevados. Esta divergencia en

los resultados puede ser debido al periodo utilizado para la recogida de muestras (cuanto mayor tiempo de recogida mayor es el tiempo de eliminación), a la sensibilidad de la metodología de detección (cuanto más sensible es la metodología mayor es el tiempo de eliminación) y a la vía de administración (el volumen de distribución en la vía sublingual es superior respecto al resto).

#### 2.4.4. Vías de administración

##### a. Administración parenteral

La buprenorfina puede administrarse vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. La dosis efectiva variará ligeramente en función de la especie estudiada y la vía de administración.

En la tabla 7 se muestran las dosis de buprenorfina en diferentes especies y rutas de administración.

##### b. Administración transdérmica

En el apartado 2.3.3. se han mencionado las características necesarias de un fármaco para poder ser utilizado en la administración transdérmica. La buprenorfina es un candidato ideal por las siguientes razones:

- peso molecular bajo, 467 mmol (inferior a 1000mmol).
- buena liposolubilidad e hidrosolubilidad. Su coeficiente

octanol/agua es de  $\log K_{o/w} = 2,9$  (Stinchcomb *et al.*, 1996).

- tiene una elevada afinidad por los receptores que compensa el lento inicio de acción [Cowan *et al.* (b), 1997].
- presenta una duración de acción prolongada (Harcus *et al.*, 1979; Carroll, 1998; Lascelles, 2000).
- muestra una buena permeabilidad a través de la epidermis y capas más profundas (c).

Especie	Dosis (mg/Kg)	Vía administración
Caballo	0.01	IV, IM
Cerdo	0.005-0.02	IM, SC
Conejo	0.01-0.05	IV, SC, IM
Gato	0.005-0.02	IV, SC, IM
Hurón	0.01-0.03	SC, IV
Mini-pig	0.04-0.05	IV, SC
Monos	0.005-0.03	IV, SC, IM
Oveja	0.01-0.02	IM, SC
Pájaros	0.02	IM, SC
Perro	0.005-0.02	IV, SC, IM
Rata	0.01-0.05	IM, SC
Ratón	0.05-0.1	IM, SC

Tabla. 7. Dosis de la buprenorfina. (IV= Intravenosa; SC= Subcutánea; IM= Intramuscular). (Papich, 2000, Pascoe, 2000; Wegner, 2000).

Actualmente, en el mercado encontramos la buprenorfina en forma de parche, casa comercial Grünenthal S.A., con las presentaciones de 35, 52,5 y 70  $\mu\text{g/h}$ . En ellos el contenido total en miligramos es de 20, 30 y 40

respectivamente, liberando una dosis diaria de 0,8, 1,2 y 1,6 mg.

El parche de buprenorfina está diseñado con la buprenorfina incorporada dentro de la matriz, en la capa adhesiva, recubierta por otra capa adhesiva (sin fármaco) y por una capa impermeable de recubrimiento. Entre las dos capas adhesivas hay una lámina separadora de poli(etilentereftalato). Con este sistema la liberación del fármaco a través de la piel hacia la circulación sistémica es continua aunque se produzcan roturas y/o lesiones en la matriz.

En la especie humana, Terlinder y Stadler [2000 (a) y (b)] estudiaron la farmacocinética de los parches de 35 y 70  $\mu\text{g/h}$  de buprenorfina tras una única aplicación de 72 horas, y la farmacocinética después de 3 aplicaciones cada 72 horas. En estos trabajos, las concentraciones plasmáticas fueron superiores a la concentración mínima eficaz (100  $\mu\text{g/mL}$  en humana).

La eficacia de los parches de buprenorfina para el tratamiento del dolor, principalmente el crónico, ha sido investigada mediante ensayos clínicos a doble-ciegos en pacientes con dolor moderado a grave (Evans y Easthope, 2003; Likar *et al.*, 2006). Cuando se aplicó repetidamente el parche el periodo de tiempo fue entre 5 meses y 5 años. De todos ellos tan solo uno comparó la eficacia analgésica de los tres parches frente a un placebo.

Entre un 50 – 90% de los pacientes describieron un descenso del dolor sin requerir analgésicos de rescate. Todos los pacientes tratados con parches de buprenorfina tuvieron mejores y más prolongados periodos de sueño respecto al placebo o a su estado anterior al estudio.

La principal indicación terapéutica del parche en medicina humana es el tratamiento del dolor moderado a grave oncológico y dolor severo que no responde a analgésicos no opioides.

En humana la dosis debe adaptarse a la situación particular de cada paciente. Inicialmente debe administrarse la dosis más baja posible que proporcione un alivio adecuado del dolor. Según las recomendaciones de la O.M.S., dependiendo de la situación del paciente, puede continuarse con la administración de un analgésico no opioide (AEMPS, 2006).

Debe aplicarse en la piel no irritada sobre una superficie lisa y exenta de pelo, cicatrices o lesiones; aplicándolo en la parte superior del cuerpo (espalda o bajo la clavícula). Debe cortarse el vello con unas tijeras (no afeitarlo). Si el lugar de aplicación necesita lavarse debe hacerse con agua (no utilizar jabón). La piel debe estar completamente seca antes de la aplicación.

El parche será presionado firmemente en el lugar de aplicación con la palma de la mano durante aproximadamente 30 segundos y puede llevarse puesto de forma continuada hasta un máximo de 72 horas.

Al reemplazar el parche, el nuevo será aplicado en un lugar diferente de la piel. Para poder poner un parche nuevo en la misma área de la piel, deberá esperarse al menos 2 aplicaciones.

En los diferentes ensayos clínicos las reacciones adversas observadas más importantes son cutáneas, gastro-intestinales y del SNC (Fig. 26).

En medicina humana se contraindica el uso de parches de buprenorfina en las siguientes situaciones:

- hipersensibilidad conocida al principio activo o a cualquiera de los excipientes.
- en pacientes opioide-dependientes y en el tratamiento de abstinencia de narcóticos.
- afecciones en las que la función y el centro respiratorio están gravemente dañadas o puedan estarlo.
- pacientes que están recibiendo inhibidores de la MAO.
- pacientes que padezcan miastenia grave.
- pacientes que padezcan delirium tremens.
- embarazo.
- menores de 18 años.

Recientemente Murrell *et al.* (2007) han estudiado la farmacocinética-dinamia de la buprenorfina vía transdérmica en la especie felina. Lo parches no indujeron analgesia a pesar de tener niveles plasmáticos comparables a la administración IV.

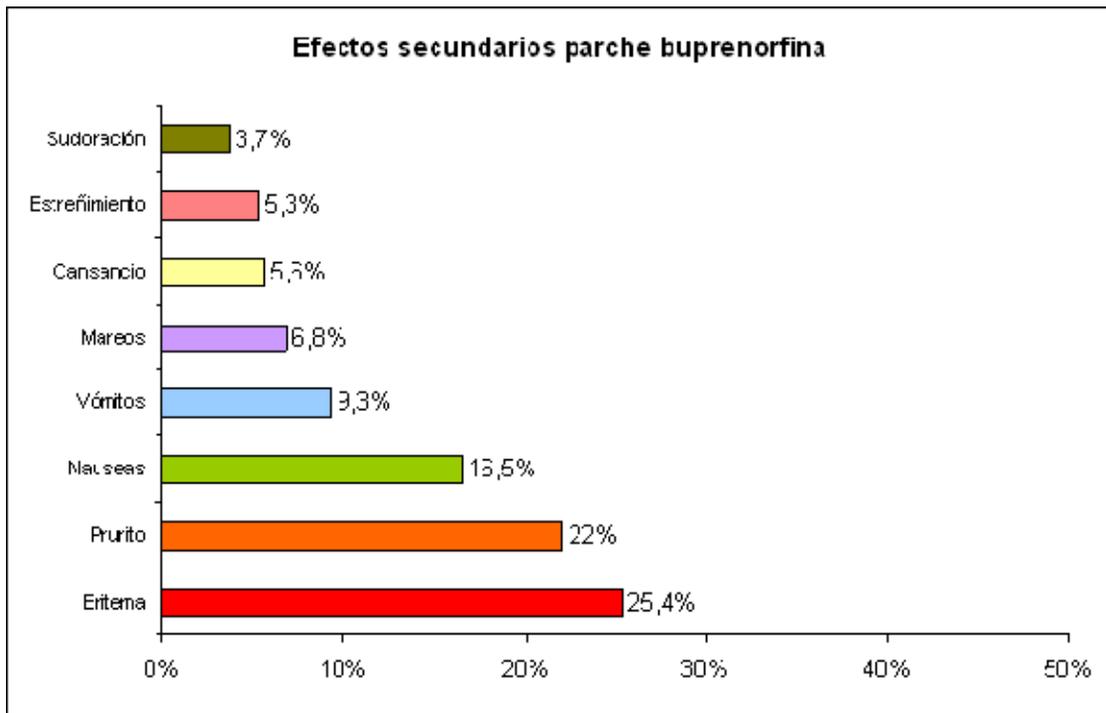


Fig. 26. Principales efectos secundarios de los parches transdérmicos de buprenorfina en la especie humana. Böhme, 2002; Likar et al., 2006.

## 3. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo son:

1. Poner a punto una técnica de radioinmunoensayo para la determinación de buprenorfina en plasma canino a partir de un kit comercial diseñado para detectar niveles de buprenorfina en orina.
2. Determinar la farmacocinética de la buprenorfina en la especie canina tras la administración de un bolo de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  IV.
3. Determinar las concentraciones plasmáticas de la buprenorfina en la especie canina tras la aplicación de un parche de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$ .
4. Determinar la eficacia analgésica de la buprenorfina tras su administración subcutánea (20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) y transdérmica (parche de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$ ) en ovariectomías de perras.

# 4- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El presente estudio experimental se dividió en 4 fases diferenciadas:

1. Validación del método de detección.
2. Determinación de la farmacocinética de un bolo intravenoso de buprenorfina a dosis terapéuticas de 20 µg/kg.
3. Determinación de las concentraciones plasmáticas de buprenorfina tras la aplicación de un sistema de absorción transdérmica, con una liberación de 70 µg/h.
4. Determinación de la eficacia analgésica de la buprenorfina administrada mediante parches de buprenorfina de 70 µg/h y tras la administración de 20 µg/kg vía subcutánea en perras ovariectomizadas.

El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Ética para Experimentación Animal y Humana de la U.A.B. con el número de autorización DARP2981.

#### **4.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE DETECCIÓN**

Las muestras de plasma obtenidas en las diferentes fases del estudio fueron analizadas mediante isótopos de  $I^{125}$  (yodo) marcados para radioinmunoensayo (RIA) (Buprenorphine double antibody RIA kit; Diagnostic Products Corporation). El kit utilizado en la especie canina fue desarrollado para el análisis de buprenorfina en orina

humana, siendo necesario realizar una curva de calibración y control para validar la metodología utilizada en el estudio.

##### **4.1.1. Calibración y control**

Para cuantificar la calibración de buprenorfina en plasma utilizando el kit de radioinmunoensayo que analiza buprenorfina en orina, fue empleado un perro de raza Beagle.

Se extrajo una muestra de sangre de 20 mL, tras desinfectar y canalizar la vena yugular izquierda. La muestra fue depositada inmediatamente en tubos de 2 mL de LH/Li Heparina (Tapval®, Aquisel SL) y fue centrifugada a 3.200 rpm durante 10 minutos. El plasma obtenido se almacenó a  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  en eppendorfs de polipropileno de 1,5 mL hasta la realización de la curva de calibración.

Utilizando el plasma obtenido como blanco, se realizó una curva de calibración. 300 µL de plasma fueron pipeteados con 0,5, 1, 2, 5 y 10 ng de buprenorfina en etanol. Para obtener el mismo volumen de muestra fue añadida la cantidad adecuada de una solución de metanol. Se aplicó en las muestras de plasma canino el mismo protocolo de análisis recomendado por el fabricante del kit y utilizado para muestras de orina. El modelo matemático y de transformación sugerido por los fabricantes fue utilizado para ajustar la señal y asignarle la concentración de buprenorfina correspondiente.

Para calcular las concentraciones de buprenorfina en las muestras de calibración y control, se realizó un análisis de regresión lineal con la transformación de la función logarítmica de la señal ( $B/B_0$  %, porcentaje de contejes corregidos por minuto) respecto al logaritmo de la concentración de buprenorfina. Para mejorar el ajuste, se monitorizó el error (%) en las concentraciones recalculadas de las muestras de calibración.

Las muestras con concentraciones superiores a 5 ng/mL fueron diluidas a 1/10 utilizando el plasma obtenido como blanco y reanalizándolas.

Para determinar la precisión y exactitud intra-ensayo se analizaron hasta 5 réplicas de una muestra control; mientras que para determinar la precisión y exactitud inter-ensayo fueron analizadas las concentraciones de las muestras control obtenidas en 3 ensayos independientes. La precisión fue expresada como una desviación estándar relativa (RSD%) de las medidas realizadas, y la exactitud fue expresada como el error relativo (%) del valor obtenido respecto al valor asignado a la muestra control.

Para calcular el límite de cuantificación, una muestra blanco de calibración (sin buprenorfina) fue

analizada cinco veces consecutivas. La desviación estándar de los valores obtenidos fue utilizada como valor del ruido. El límite de cuantificación fue definido como el valor medio obtenido de la muestra blanco menos diez veces el valor estimado del ruido (debido a la disminución de la señal de la pendiente de la curva de calibración).

#### 4.1.2. Resultados

Los resultados del estudio de validación del ensayo RIA para las muestras de plasma canino pueden verse en la Tabla 8.

Los errores entre la concentración asignada de las muestras de calibración y los valores recalculados obtenidos con las ecuaciones fueron siempre inferiores al 10%, mostrando un buen ajuste de la curva de calibración. En la Tabla 8 puede observarse que la precisión y exactitud intra e inter-ensayo fueron menores del 15%.

El límite de cuantificación fue estimado en 0,04 ng/mL. La sensibilidad del estudio permitió detectar concentraciones hasta los 720 min. El límite de detección fue de 0,148 ng/mL y el de cuantificación de 0,248 ng/mL.

Assay	N	Intra-assay				n	Inter-assay			
		Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Precision* RSD (%)	Accuracy** Error (%)		Mean (ng/mL)	SD (ng/mL)	Precision† RSD (%)	Accuracy** Error (%)
1	5	0.98	0.06	6.0	4.6					
2	5	0.99	0.05	5.5	4.3	15	0.98	0.09	8.8	6.8
3	5	0.97	0.14	14.3	11.4					

Tabla 8. Resultados del estudio de validación. Precisión y exactitud de los ensayos intra e inter-ensayo obtenidos en el RIA para la determinación de la concentración plasmática de buprenorfina en perros.

## 4.2 FARMACOCINÉTICA DE UN BOLO INTRAVENOSO DE BUPRENORFINA

### 4.2.1. Material y métodos

#### a. Animales

En la realización de esta fase se emplearon 6 perros de raza Beagle con 3 - 4 años de edad y con unos pesos entre 12 – 15 kg. Todos los animales fueron considerados clínicamente sanos, tras la realización de un examen físico y una analítica completa (hemograma y bioquímica).

#### b. Preparación de los animales

La preparación de los animales fue destinada a la colocación de un catéter yugular 24 horas antes de la ejecución del procedimiento experimental.

El día previo al estudio, los animales fueron anestesiados con propofol (Propofol-Lipuro 1%®, B | Braun) (4 mg/kg/IV) a través de un catéter de 20G

(Vasocan®, B | Braun) colocado en la vena cefálica.

Tras la inducción, se intubó al animal y se realizó el mantenimiento anestésico mediante isoflurano (Isoflo®, Veterinaria Esteve) al 1,5 – 2,5% en 100% de oxígeno (150 mL/kg/min.) a través de un circuito semiabierto tipo Mapleson D (Bain).

Después de rasurar y desinfectar con clorhexidina la zona lateral del cuello, se colocó, vía percutánea, un catéter venoso central de 18G (Certofix®, B | Braun) en la vena yugular izquierda (Fig. 27, 28 y 29).



Fig. 27. Componentes del catéter yugular.

El catéter fue fijado en la piel con dos puntos de sutura (Dafilon blue®, B | Braun).

La zona de inserción del catéter se desinfectó con clorhexidina en pomada (Cristalmina®) y fue cubierto el cuello con gasas, venda de gasa y una venda de fijación cohesiva (Askina® haft color, B | Braun) (Fig. 30).

Cuando los animales recuperaron sus reflejos fueron estabulados durante un periodo mínimo de 24 horas. Durante este periodo, los catéteres fueron heparinizados cada 8 horas para prevenir su oclusión (suero fisiológico 0,9% con 5 U de heparina/mL).

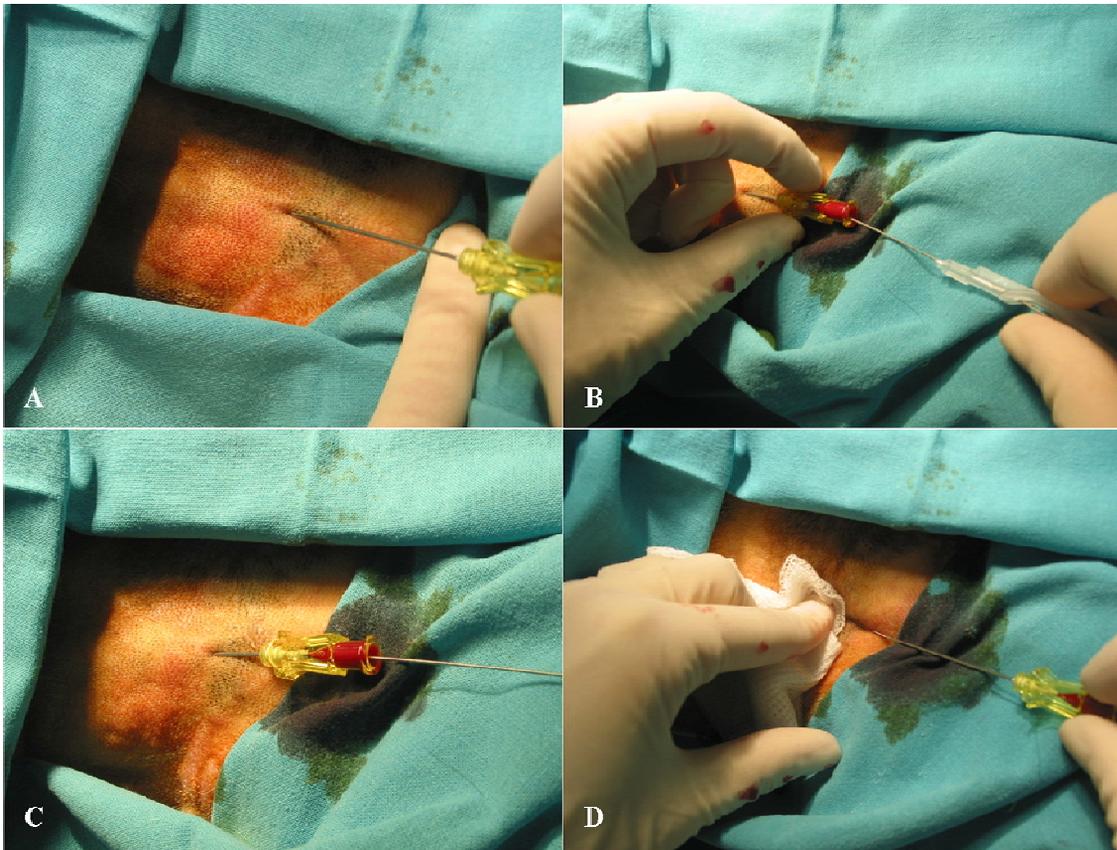
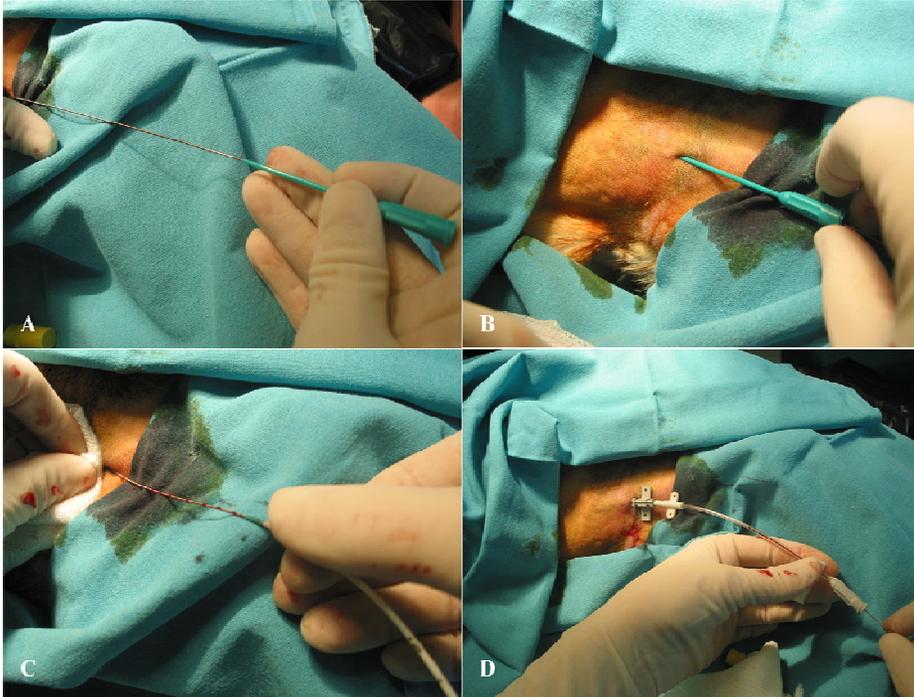


Fig. 28. Colocación del catéter yugular (1). (A) Inserción de la aguja vía percutánea. (B) y (C) Inserción del fiador metálico a través de la aguja. (D) Retirada de la aguja manteniendo el fiador metálico.



**Fig. 29. Colocación del catéter yugular (2).** (A) Inserción del dilatador en el fiador metálico. (B) Dilatación zona inserción cutánea. (C) y (D) Inserción del catéter yugular a través del fiador.



**Fig. 30. Colocación del catéter yugular (3).** (A) Comprobación permeabilidad del catéter. (B) Fijación del catéter en la piel mediante suturas. (C) Aspecto final del vendaje del catéter yugular.

### **c. Procedimiento experimental: administración intravenosa y recogida de muestras**

El día del estudio se administró una dosis intravenosa de 20 µg/kg de buprenorfina (Buprex®, Schering-Plough) a través de un catéter de 20G (Vasocan®, B | Braun) colocado en la vena cefálica.

La obtención de las muestras, a través del catéter yugular, se realizó antes y a los 1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480 y 720 minutos después de la administración del fármaco.

El volumen de sangre por extracción fue de 2 mL. El volumen total fue siempre inferior al 10% del volumen sanguíneo de cada perro. Asimismo, tras cada extracción, el volumen de sangre fue reemplazado por suero fisiológico.

Las muestras fueron depositadas inmediatamente en tubos de LH/Li Heparina (Tapval®, Aquisel SL.) y fueron centrifugadas durante 10 min. a 3.200 rpm. El plasma obtenido se depositó en eppendorfs de polipropileno y fue congelado a -22°C hasta el análisis de las muestras.

Todas las muestras se congelaron y fueron analizadas en un periodo inferior a 30 días.

Durante el periodo de estudio los animales se mantuvieron en ayuno sólido, disponiendo de agua en todo momento.

### **d. Análisis farmacocinético**

Para la determinación del bolo intravenoso, el análisis farmacocinético compartimental de los datos concentración-tiempo se realizó mediante un WinNonlin Software Package (versión 4.1). El método de los mínimos cuadrados fue elegido como procedimiento de ajuste para minimizar las diferencias entre las concentraciones observadas y las predichas. La fiabilidad se comprobó mediante un diagrama de diagnóstico y un análisis de residuos. El F-test, los criterios de información de Akaike y los criterios de Schwartz se emplearon para la discriminación entre modelos.

Los parámetros farmacocinéticos, que describen la ecuación fueron calculados para cada perro. Los siguientes parámetros fueron calculados: el área bajo la curva concentración-tiempo ( $AUC^{\infty}_0$ ), la clearance sistémica, las semividas de distribución y eliminación, y el volumen de distribución.

#### **4.2.2. Resultados**

La curva de concentración-tiempo de cada animal, así como la curva de concentración media pueden ser observadas en las Fig. 31 y 32.

En la tabla 9 se muestran los valores medios tras la administración del bolo de buprenorfina.

La buprenorfina fue detectada en plasma hasta los 720 minutos post-administración en 4 de los animales. En los animales 2 y 3 se detectaron concentraciones plasmáticas de buprenorfina durante 360 y 240 minutos respectivamente.

En la Fig. 32 podemos observar una primera fase donde la concentración plasmática de buprenorfina cae rápidamente, seguida por un descenso mas lento que puede dividirse en dos fases.

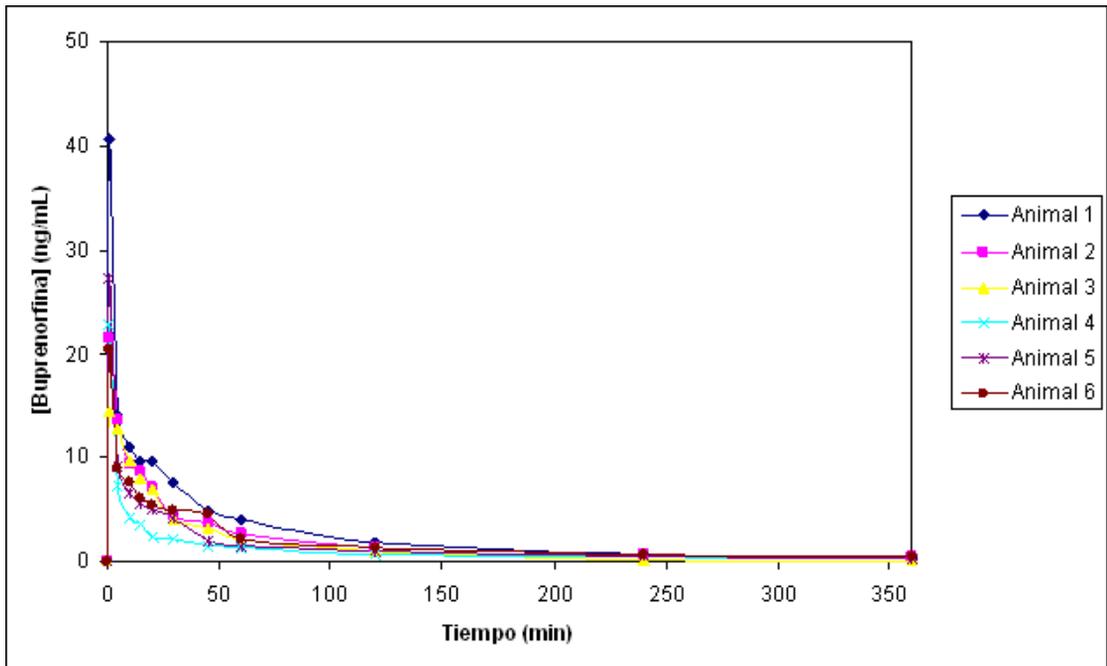


Fig. 31. Concentración plasmática de buprenorfina tras la administración IV en 6 perros (Valores individuales).

Tiempo (min)	Media (ng/mL)	SD (ng/mL)
0	0,00	0,00
1	24,54	8,86
5	11,02	2,86
10	8,13	2,46
15	6,94	2,24
20	6,15	2,44
30	4,56	1,75
45	3,39	1,36
60	2,36	1,00
120	1,22	0,41
240	0,56	0,19
360	0,34	0,18
480	0,26	0,23
720	0,12	0,11

Tabla 9. Valores medios de la concentración plasmática de buprenorfina (media  $\pm$  SD) tras la administración IV en 6 perros.

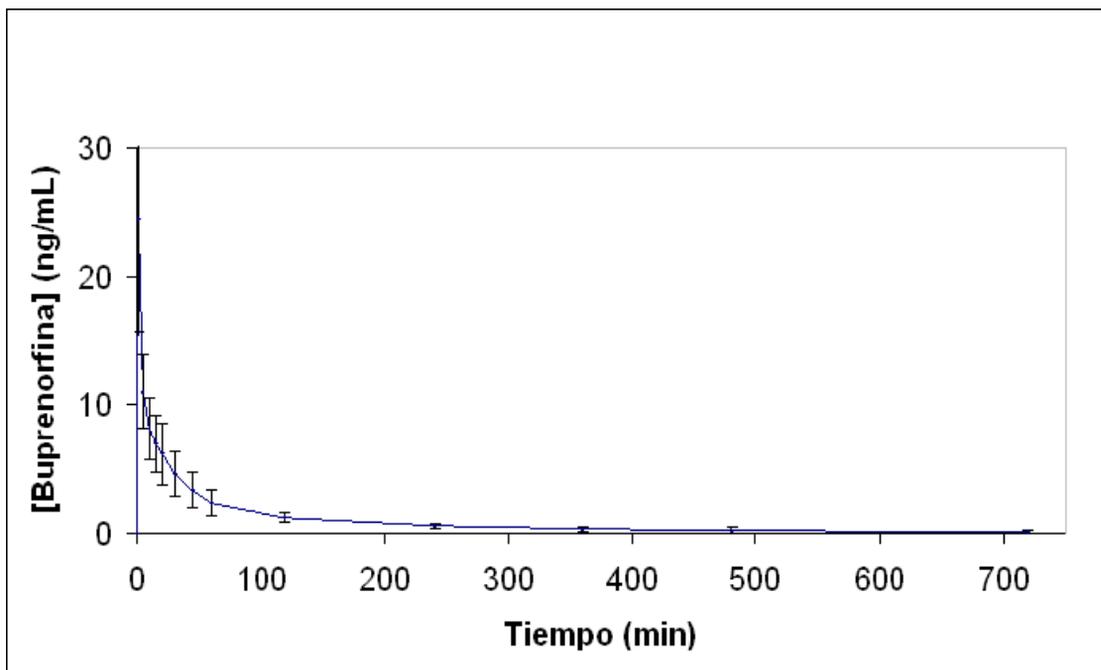


Fig. 32. Concentración plasmática de buprenorfina (media  $\pm$  SD) tras la administración IV en 6 perros.

Las concentraciones plasmáticas se ajustaron a un modelo tricompartmental. La ecuación que mejor describe su comportamiento es  $C_p = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Ce^{-\gamma t}$ , donde A, B y C representan las concentraciones iniciales de las fases  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ; y  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  son las constantes de las tasas de primer orden para los tres compartimentos.

La concentración máxima (36,82 ng/mL) se alcanzó un minuto después de la administración intravenosa de 20  $\mu$ g/kg.

El tiempo de vida media fue de  $16,63 \pm 5,79$  min., el volumen de distribución fue de  $6317,88 \pm 4574,18$  mL/kg y la clearance fue de  $26,82 \pm 5,7$  mL/min/kg.

	1	2	3	4	5	6	Media	SD
A ng/mL	54,5	11,44	2,29	27,79	35,26	24,05	25,89	18,33
B ng/mL	12,31	11	9,61	4,83	8,25	8,66	9,11	2,58
C ng/mL	1,73	3,12	3,61	0,9	0,96	0,66	1,83	1,25
$\alpha$ L/min	0,71	0,36	0,06	0,47	0,65	0,75	0,50	0,26
$\beta$ L/min	0,02	0,05	0,06	0,04	0,04	0,02	0,04	0,02
$\gamma$ L/min	0,004	0,006	0,01	0,002	0,002	0,001	0,004	0,003
$t_{1/2}(\alpha)$ min	0,98	1,92	12,38	1,46	1,06	0,93	3,12	4,55
$t_{1/2}(\beta)$ min	27,69	13,89	11,93	15,78	19,18	32,84	20,22	8,30
$t_{1/2}(\gamma)$ min	178,13	112,34	61,36	412,66	264,37	588,53	269,57	199,33
AUC ng.min/mL	1013,59	757,69	525,88	702,16	650,12	1002,72	775,36	195,98
$C_{max}$ ng/mL	68,53	25,55	15,5	33,51	44,48	33,36	36,82	18,27
Cl mL/min	256,51	395,93	490,6	364,58	363	323,11	365,62	77,79
Vd mL	33947,92	45176,43	29732,31	166379,04	81852,83	159588,3	86112,81	62346,11

Tabla 10. Parámetros farmacocinéticos tras la administración de un bolo de 20  $\mu$ g/kg de buprenorfina en perros. A, B, C= Concentraciones iniciales de las fases  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ;  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  = constantes de las tasas de primer orden para cada compartimento; AUC= Área bajo la curva de niveles plasmáticos;  $C_{max}$ = Concentración máxima; Cl= Aclaramiento plasmático; Vd= Volumen de distribución.

### 4.2.3. Discusión

En el presente estudio las muestras fueron tomadas a partir de un catéter central, ya que en la extracción de muestras sanguíneas seriadas durante períodos prolongados la colocación de un catéter de polipropileno en la vena yugular es el más método idóneo (Álvarez Gómez *et al.*, 2001). Sin

embargo, se ha descrito cierta capacidad de la buprenorfina a unirse a las paredes de los catéteres de plástico (Garrett y Chandran, 1989). Para minimizar los errores producidos por esta unión, se administró el bolo de buprenorfina por un catéter en la vena cefálica y las muestras se extrajeron por el catéter central. Asimismo, al finalizar la extracción de la muestra el catéter fue heparinizado.

Para la colocación del catéter central fue necesario anestesiarse a los animales. Con el objetivo de evitar posibles interferencias entre los anestésicos y el resultado del estudio, fueron utilizados fármacos que presentan un rápido metabolismo y una eliminación inmediata [Debrabandere *et al.*, 1993; Paddleford (a), 1999; Short *et al.*, 1999; Andaluz, 2004].

Garrett y Chandran (1990) determinaron la farmacocinética de la buprenorfina tras la administración de un bolo IV en la especie canina. No obstante, las dosis empleadas en este estudio fueron muy superiores a las dosis clínicas descritas para la especie canina (780 – 2560 µg/kg). En el presente estudio la dosis de buprenorfina empleada fue de 20 µg/kg, encontrándose dentro del rango descrito como clínicamente eficaz para el tratamiento del dolor agudo en la especie canina [10 - 20 µg/kg (Paddleford (b), 1999; Dobromoylskyj *et al.*, 2000; Lascelles, 2000; Gaynor y Muir, 2002)].

Los tiempos escogidos para la toma de muestras se basaron, con ligeras modificaciones, en el trabajo realizado por Taylor *et al.* (2001).

En el presente estudio, las concentraciones plasmáticas de buprenorfina fueron analizadas mediante un kit comercial de RIA desarrollado para su uso en la especie humana, que determina las concentraciones de buprenorfina en orina. Este kit, ya ha sido empleado para la determinación de buprenorfina en plasma tras la administración IV,

oral y transdérmica en gatos (Taylor *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 2005; Murrell *et al.*, 2007).

A diferencia de la HPLC (cromatografía líquida de “alta resolución”) utilizada por Garrett y Chandran (1990) en la especie canina que mostró una falta de sensibilidad para valorar concentraciones bajas del fármaco en sangre, en el presente estudio, los resultados de validación de la RIA empleada han mostrado suficiente sensibilidad para confirmar dicha técnica como un método válido para determinar niveles plasmáticos de buprenorfina a dosis terapéuticas en el perro.

Después de la administración del bolo endovenoso de buprenorfina se ha observado que la concentración plasmática disminuye siguiendo una cinética de 3 fases. Inicialmente hay una rápida reducción de los niveles plasmáticos de buprenorfina, seguido de un descenso más lento dividido en dos etapas. Esta cinética de modelo tricompartmental ya ha sido descrita en el hombre (Bullingham *et al.*, 1980; Hand *et al.*, 1990; Kuhlman *et al.*, 1996), la rata (Gopal *et al.*, 2002; Yassen *et al.*, 2005), el ratón (Yu *et al.*, 2006), el conejo (Ho *et al.*, 1991), la oveja (Nolan *et al.*, 1987) y a dosis supraterapéuticas en el perro (Garrett y Chandran, 1990).

En el presente estudio hemos obtenido un rápido descenso inicial de los niveles plasmáticos de buprenorfina ( $t_{1/2\alpha} = 3,12 \pm 4,55$  min.) y un volumen de distribución 9 veces superior al volumen de agua corporal de los

animales (86,11 L/kg vs 9,62 L/kg). Estos resultados podrían reflejar la distribución de la buprenorfina desde el compartimento vascular hacia tejidos muy vascularizados. De hecho, en el estudio de Ohtani *et al.* (1997) realizado en ratas, fueron descritas elevadas concentraciones de buprenorfina en el cerebro a los 2 minutos de la administración de un bolo endovenoso. Asimismo, Heel *et al.*, (1979) y Garrett y Chandran (1990) describieron elevadas concentraciones de buprenorfina en el hígado y una rápida formación de metabolitos hepáticos tras su administración parenteral. Estos estudios muestran la rápida distribución que realiza la buprenorfina desde la sangre al cerebro y al hígado.

En nuestro estudio hemos obtenido un volumen de distribución y un tiempo de eliminación elevado (Tabla 10), a pesar de presentar una marcada unión a las proteínas plasmáticas [96% (Heel, 1979)]. Estos valores son similares a los descritos en la especie humana (Bullingham *et al.*, 1980; Hand *et al.*, 1990; Kuhlman *et al.*, 1996), la rata (Ohtani *et al.*, 1994; Gopal *et al.*, 2001), el conejo (Ho *et al.*, 1991), la oveja (Nolan *et al.*, 1987) y el gato (Taylor *et al.*, 2001; Robertson *et al.*, 2005). De hecho, han sido descritos resultados similares en fármacos con una elevada lipofilia (permite una amplia distribución de la molécula en los tejidos), a pesar de tener una elevada unión a las proteínas plasmáticas (Papich y Alcorn, 1995; Sellon *et al.*, 2001), ya que, además de las proteínas plasmáticas, el volumen de distribución está influenciado por el coeficiente de

partición del fármaco en grasa (lipofilia) y por su grado de unión a otros tejidos.

En el presente estudio se observa como las concentraciones plasmáticas de buprenorfina disminuyen considerablemente pasados 60 min. de la administración intravenosa (Fig. 32), manteniéndose hasta la finalización del estudio a concentraciones muy bajas (0,56-0,12 ng/mL). Distintos estudios han mostrado que el inicio de la analgesia tras la administración IV se produce a los 40-50 min. y la duración es de 4-8 horas [Carroll, 1998; Hellebrekers (b), 2000; Lascelles, 2000; Mc Kelvey y Hollingshead, 2003; Slingsby *et al.*, 2006]. Esta ausencia de correlación entre concentraciones plasmáticas de buprenorfina en sangre y el efecto analgésico ha sido descrita anteriormente [Nolan *et al.*, 1987; Ohtani *et al.*, 1995; Robertson *et al.*, 2005; Yassen *et al.*, 2005 y 2006 (a)].

Una de las principales causas descritas para este fenómeno es la forma de unión de la buprenorfina a sus receptores. Igual que otros opioides, la buprenorfina presenta una gran afinidad y una lenta disociación para los receptores mu. De hecho, Boas y Villiger (1985) describieron, *in vitro*, la asociación y disociación de la buprenorfina hacia estos. En este trabajo se observó en la curva de disociación de la buprenorfina un  $t_{1/2}$  de 166 min., con un 50% de buprenorfina unida después de 60 min. Por otro lado, Yassen *et al.* [2005 y 2006 (a)] han descrito una  $k_{eo}$  de  $0,024 \text{ min}^{-1}$  (constante de distribución de primer orden en la biofase); y Pontani *et al.*

(1985) un tiempo medio de eliminación cerebral de 1,1 hora tras la administración de un bolo IV en ratas. Todos estos trabajos muestran una lenta asociación/disociación de la buprenorfina en sus receptores, una lenta distribución en su biofase y una lenta eliminación del cerebro, que pueden retrasar el inicio de la acción analgésica y mantenerla durante un periodo de tiempo prolongado, a pesar de los bajos niveles plasmáticos observados, ya que la buprenorfina está unida a los receptores.

La acción analgésica de los metabolitos también ha sido descrita, para los opioides, como una posible causa de la pobre correlación entre la concentración plasmática y la analgesia observada. A pesar que no hemos determinado la concentración plasmática del principal metabolito de la buprenorfina, Ohtani *et al.* (1995) concluyeron que la norbuprenorfina aportaba una analgesia mínima, debido

principalmente a dos razones; en primer lugar, la norbuprenorfina tiene una baja permeabilidad en la barrera hematoencefálica, con muy bajas concentraciones en encéfalo (órgano principal en la nocicepción de los opioides). En segundo lugar, al unirse a los receptores opiáceos la norbuprenorfina tiene una actividad intrínseca muy pequeña (25 – 30% de la buprenorfina).

En el presente estudio se muestra como la buprenorfina sigue una cinética tricompartmental donde la fase inicial se produce por una rápida distribución del fármaco hacia los tejidos más vascularizados como el cerebro. La segunda fase está limitada por los procesos de eliminación del fármaco; y la tercera fase puede representar la lenta disociación de la buprenorfina de las áreas donde está fuertemente unida (los receptores), pudiendo afectar a los efectos analgésicos que presenta este fármaco.

### **4.3. DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE BUPRENORFINA TRAS LA APLICACIÓN DE UN SISTEMA DE ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA, CON UNA LIBERACIÓN DE 70 µg/h**

#### **4.3.1. Material y métodos**

##### **a. Animales**

En la realización de esta fase se emplearon 4 perros de raza Beagle de 3 - 4 años de edad y con pesos entre 12 – 15 kg. Todos los animales fueron considerados clínicamente sanos, tras la realización de un examen físico y una analítica completa (hemograma y bioquímica).

##### **b. Preparación de los animales**

La preparación de los animales fue destinada a la colocación de un catéter yugular 24 horas antes de la realización del procedimiento experimental. Para ello se realizó la misma metodología descrita en el apartado 4.2.1.b.

Cada 48 horas se realizó un control, desinfección y cambio de vendaje del catéter.

##### **c. Procedimiento experimental: aplicación del parche y recogida de muestras**

El procedimiento experimental se realizó 24 horas después de la preparación de los animales. Dicho

procedimiento consistió en el estudio farmacológico de la buprenorfina tras la aplicación de un parche de 70 µg/h (Transtec®, Grünenthal).

Previamente a la colocación del parche, se extrajo una muestra de sangre control (blanco) a través del catéter yugular.

Los parches fueron aplicados en la zona ventro-caudal del abdomen. El área de aplicación del parche fue rasurada y aspirada (Fig. 33). En el momento de la colocación del parche (Fig. 34) se ejerció una presión con la mano durante un minuto para asegurar un buen contacto con la piel. Posteriormente se protegió este con un film adhesivo transparente (OpSite®, Smith & Nephew Medical Limited), y un vendaje elástico tubular (Vendaje elástico tubular Teide®, Everest).

Tras la aplicación del parche se procedió a la extracción de las muestras sanguíneas con la metodología descrita en el apartado 4.2.1.c. La obtención de estas se realizó en los tiempos 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96, 102 y 108 horas, para los animales 2, 3 y 4. En el perro 1 el periodo de extracción finalizó a las 48 horas.

Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 3.200 rpm durante 10 min. El plasma obtenido se almacenó a – 22°C en eppendorfs de polipropileno hasta su análisis (tiempo inferior a 30 días).

Cada 24 horas se realizó un control del estado del parche, cambiando el vendaje elástico.

Para evitar la extracción del parche por parte del animal, estos llevaron una campana isabelina (Buster®, Jørgen Kruuser A/S).



Fig. 33. Zona de la aplicación del parche, antes (A) y después del rasurado (B).



Fig. 34. Imagen del parche aplicado en la zona ventro-caudal del abdomen.

Durante el periodo de estudio los animales dispusieron de agua y alimento en todo momento.

#### d. Análisis farmacocinético

La determinación de las concentraciones plasmáticas de buprenorfina tras la administración de un parche de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$  fueron realizadas mediante isótopos de  $\text{I}^{125}$  marcados para radioinmunoensayo (RIA) (Buprenorphine double antibody RIA kit; Diagnostic Products Corporation), según la técnica descrita en el apartado 4.1.

#### 4.3.2. Resultados

Las curvas de concentración-tiempo de cada animal y de concentración media tras la administración transdérmica de buprenorfina se muestran en las Fig. 35 y 36.

Durante las primeras 36 horas y en 3 de los animales las concentraciones plasmáticas de buprenorfina aumentaron. A partir de entonces, en 2 animales permanecieron alrededor de los 0,7-1,5  $\text{ng}/\text{mL}$  sin observarse una disminución de las concentraciones plasmáticas durante el transcurso del estudio.

En el perro 3, las concentraciones plasmáticas se mantuvieron en niveles inferiores durante todo el periodo de estudio, empezándose a detectar a partir de las 48 horas. Dichas concentraciones se mantuvieron entre 0,07-0,17  $\text{ng}/\text{mL}$  durante el transcurso del estudio.

Los animales 2 y 4 alcanzaron una  $C_{max}$  de 1,83 y 1,86 ng/mL a las 66 y 108 horas respectivamente, mientras en el perro 3 su  $C_{max}$  fue de 0,17 ng/mL a las 96 horas.

Los parches de buprenorfina fueron bien tolerados por todos los animales. Sin embargo, en los perros 2 y 4, después de retirar el parche la zona en contacto con él presentaba una ligera reacción eritematosa.

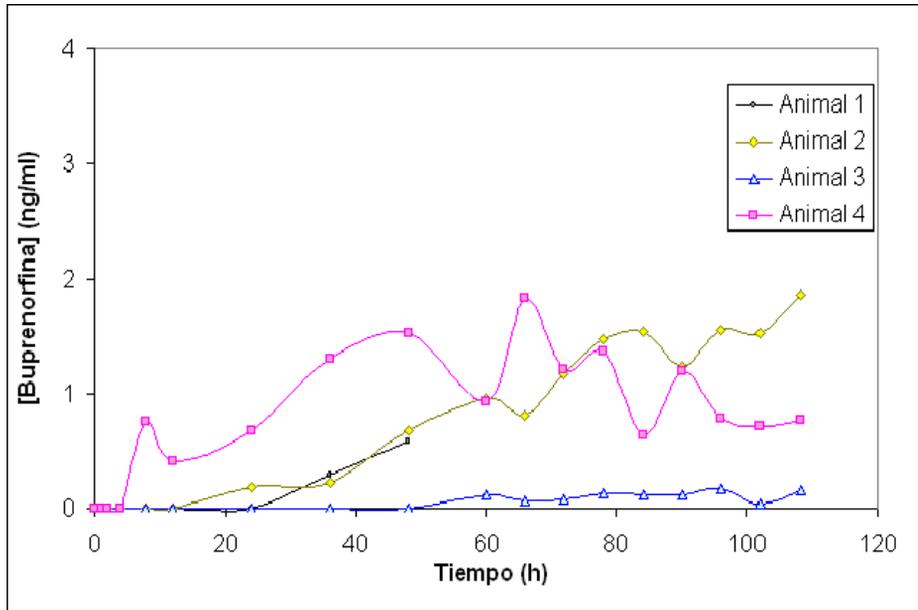


Fig. 35. Concentración plasmática de buprenorfina tras la administración transdérmica del parche de 70µg/h en 4 perros (Valores individuales).

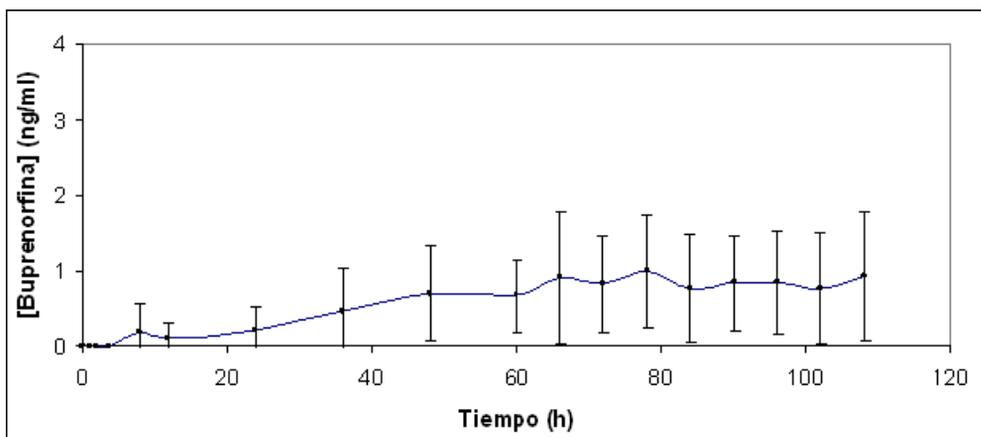


Fig. 36. Concentración plasmática de buprenorfina (media  $\pm$  SD) tras la administración transdérmica del parche de 70 µg/h en 4 perros.

### 4.3.3. Discusión

En este estudio se pretende valorar la absorción y la curva plasmática del parche de buprenorfina utilizando una presentación comercial diseñada para la especie humana. De las presentaciones comerciales existentes (35, 52,5 y 70  $\mu\text{g/h}$ ) para la realización del presente estudio se empleó la de mayor dosis. Esta elección se ha realizado teniendo en cuenta la ausencia de estudios que valoren la absorción transdérmica de la buprenorfina en la especie canina. Con la aplicación del parche de 70  $\mu\text{g/h}$  se ha pretendido obtener los mayores niveles plasmáticos posibles.

Uno de los factores que afectan los niveles plasmáticos de fármacos administrados transdérmicamente es el lugar de aplicación (Riviere y Papich, 2001; Hofmeister y Egger, 2004; Mills *et al.*, 2006). Los únicos estudios que han valorado la absorción transdérmica de un analgésico en la especie canina utilizaron el fentanilo (Kyles *et al.*, 1996 y 1998; Egger *et al.*, 1998; Robinson *et al.*, 1999; Welch *et al.*, 2002; Pettifer *et al.*, 2004; Hofmeister y Egger, 2004). En ellos los parches fueron colocados en la zona lateral del tórax, la zona dorsal del tórax, la región cervical dorsal y/o la zona caudal del abdomen. Entre todas estas regiones corporales, estudios recientes han demostrado una mayor y más rápida absorción del fentanilo cuando se aplica en la zona caudal del abdomen (Welch *et al.*, 2002; Mills *et al.*, 2004), por ese motivo los parches en el presente estudio fueron aplicados en esta región.

En nuestro estudio, después de la administración de los parches de buprenorfina puede apreciarse un aumento progresivo de la concentración plasmática hasta las 36 – 48 horas post-aplicación, manteniéndose en una fase estacionaria (0,7-1,5  $\text{ng/mL}$ ) hasta la finalización del experimento. Este aumento progresivo en las concentraciones plasmáticas, junto a la presencia de una fase estacionaria ha sido descrita en la especie humana [Terlinder y Stadler (a), 2000]. No obstante, en gatos, tras la aplicación de un parche de 35  $\mu\text{g/h}$  (Murrell *et al.*, 2007) las concentraciones aumentaron progresivamente hasta las 72 horas. Según Terlinder y Stadler [(a) y (b), 2000] este aumento progresivo en la concentración plasmática hasta lograr la fase estacionaria puede ser consecuencia de un almacenamiento y una lenta liberación de la buprenorfina desde la piel y el tejido subcutáneo. De hecho, después de la retirada de los parches de buprenorfina en sus diferentes presentaciones [Terlinder y Stadler (a) y (b), 2000; Murrell *et al.*, 2007] se ha apreciado un descenso lento en las concentraciones y un tiempo de vida media de eliminación elevado (entre 11 - 21 horas en humana y entre 8 - 12 horas en la especie felina) demostrando el posible efecto reservorio de la piel y el subcutáneo. Este efecto también ha sido descrito tras la aplicación de parches de fentanilo en el perro y el gato (Kyles *et al.*, 1996; Egger *et al.*, 1998; Robinson *et al.*, 1999; Hofmeister y Egger, 2004; Pettifer y Hosgood, 2004).

En nuestro estudio pueden apreciarse concentraciones plasmáticas de buprenorfina muy bajas en el animal nº 3 (Fig. 35). Una mala aplicación del parche de buprenorfina (posiblemente no ha contactado toda la superficie del parche con la piel) puede ser la razón de este resultado. Esto podría haber producido el retraso en la aparición de niveles plasmáticos detectables con nuestra técnica, junto a unas concentraciones menores respecto a las del resto de animales. Tampoco debe olvidarse la existencia de diferencias inter e intra-individuales capaces de afectar a la absorción y/o distribución de los fármacos administrados transdérmicamente.

En el presente estudio los animales 2 y 4 presentaron una  $C_{max}$  de 1,83 y 1,86 ng/mL respectivamente. Estos resultados son superiores a los 0,62 ng/mL observados, para el mismo parche, en la especie humana [Terlinder y Stadler (a), 2000]. Las diferencias presentes entre nuestro estudio y el realizado en humana pueden ser debidas a los distintos periodos de aplicación. Terlinder y Stadler [(a) 2000] mantuvieron el parche durante 72 horas y la concentración plasmática osciló alrededor de la  $C_{max}$  durante las 36-60 horas; en nuestro estudio se mantuvieron las concentraciones alrededor de la  $C_{max}$  durante las 60-108 horas. Sin embargo, cuando Terlinder y Stadler [(b) 2000] estudiaron la farmacocinética de los parches de buprenorfina después de tres aplicaciones consecutivas cada 72 horas, obtuvieron resultados similares a los nuestros, ya que lograron la  $C_{max}$

entre las 144-226 horas (momento de la retirada del tercer parche) y las concentraciones plasmáticas oscilaron alrededor de la  $C_{max}$  durante las 72-226 horas.

Por otro lado, la  $C_{max}$  obtenida en nuestro trabajo fue inferior a los 10 ng/mL descrita en la especie felina tras aplicar el parche de 35 µg/h (Murrell *et al.*, 2007).  $C_{max}$  superiores en la especie felina respecto a la canina también han sido descritas tras la administración transdérmica de fentanilo (Kyles *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2000; Hofmeister y Egger, 2004). Diferencias en la estructura de la piel entre el hombre, el perro y el gato, como las distintas profundidades del *stratum corneum*, el número de células y su grosor, diferencias en el flujo sanguíneo o en los anejos cutáneos, son factores capaces de alterar la absorción transdérmica que pueden explicar la discrepancia de resultados entre nuestro estudio y los realizados en medicina humana y en gatos.

Aunque el efecto analgésico de la buprenorfina vía transdérmica en la especie canina no puede ser demostrado únicamente con los resultados obtenidos en el presente estudio, son algunos los indicios que podrían indicar que esta vía de administración es efectiva en los perros.

Uno de los parámetros utilizados para evaluar la efectividad analgésica de un fármaco es conocer la concentración mínima eficaz (CME), siendo la de la buprenorfina de 0,1 ng/mL para la especie humana. Aunque en el perro no

existen estudios para determinar la CME de la buprenorfina, si consideramos que las concentraciones plasmáticas obtenidas en este trabajo son superiores a las concentraciones obtenidas tras el bolo IV (Tabla 9) durante el intervalo de 4-8 horas, se podría pensar en un cierto efecto analgésico tras la aplicación transdérmica.

Por otro lado, en el estudio realizado por Terlinder y Stadler [(a) 2000], las concentraciones plasmáticas ( $0,624 \pm 0,185$  ng/mL), desde las 11 horas postaplicación hasta la retirada del parche, fueron superiores a la CME. En nuestro estudio, los animales 1, 2 y 4 mantuvieron concentraciones plasmáticas superiores a la CME humana a partir de las 8-24 horas. Estos datos también indicarían que la aplicación del parche de 70  $\mu$ g/h puede producir analgesia en los perros. Resultados similares han sido obtenidos en la especie canina después de la aplicación de parches de fentanilo. (Kyles *et al.*, 1996 y 1998; Egger *et al.*, 1998; Robinson *et al.*, 1999; Welch *et al.*, 2002; Pettifer *et al.*, 2004). En estos estudios las concentraciones plasmáticas del fentanilo administrado vía transdérmica fueron superiores a la CME del fentanilo de humana, y en la especie canina dichas concentraciones plasmáticas han mostrado ser analgésicas (Kyles *et al.*, 1996 y 1998; Egger *et al.*, 1998; Hofmeister y Egger, 2004).

No obstante, en la especie felina la buprenorfina vía transdérmica (35  $\mu$ g/h) no ofreció analgesia tras evaluar el

dolor empleando un estímulo térmico, a pesar de tener concentraciones plasmáticas, durante 96 horas, superiores a la CME humana (Murrell *et al.*, 2007). Según los autores, una posible explicación de dicho hallazgo fue que para inducir analgesia la buprenorfina debe llegar al SNC y unirse a los receptores opioides. Después de una administración sistémica las concentraciones plasmáticas de buprenorfina son muy elevadas, permitiendo una mayor difusión de fármaco entre el plasma y el SNC. Sin embargo, cuando el parche es colocado en la piel las concentraciones aumentan suavemente permitiendo una lenta difusión de la buprenorfina hacia el SNC capaz de retrasar el inicio de la analgesia.

De hecho, en la especie felina se ha observado que a pesar de obtener concentraciones plasmáticas similares, la analgesia tras la administración intravenosa de buprenorfina es superior a la obtenida vía oral e intramuscular, y en estas es mayor respecto a la vía subcutánea (Robertson *et al.*, 2005; Steagall *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2007). Estos resultados no sólo muestran la pobre correlación entre concentraciones plasmáticas de buprenorfina y su efecto analgésico, también indican que la vía de administración es un factor a tener en cuenta al valorar la analgesia de la buprenorfina. Rutas con una lenta absorción pueden producir una menor y más tardía analgesia por dos razones. En primer lugar, no deben conseguir el suficiente gradiente de concentración en el lugar de acción (SNC). En segundo

lugar, la lenta asociación de la buprenorfina a sus receptores junto a una menor cantidad de receptores ocupados puede retrasar la aparición de la analgesia.

Otra posible causa de la ausencia o retraso en la analgesia tras la administración del parche en la especie felina puede ser el estímulo nociceptivo utilizado (estímulo térmico); ya que dependiendo del test realizado, y del tipo de estímulo nocivo (agudo o crónico) los resultados obtenidos con un mismo fármaco pueden ser diferentes (Roughan y Flecknell, 2002; Meert y Vermerisch, 2005). Diversos estudios

sugieren una mayor antinocicepción de la buprenorfina en tests de presión y químicos respecto a los térmicos y/o de estimulación eléctrica (Tyers, 1980, Sadée *et al.*, 1982; Meert y Vermerisch, 2005; Steagall *et al.*, 2006; Steagall *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

A pesar que nuestros resultados indican que el parche de buprenorfina de 70 µg/h aplicado en la especie canina aporta unos niveles plasmáticos estables durante un periodo mínimo de 108 horas (Fig. 36), sería necesaria la realización de más estudios farmacocinéticos/dinámicos para confirmar estos resultados.

#### **4.4. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA ANALGÉSICA DE LA BUPRENORFINA ADMINISTRADA SUBCUTÁNEA Y TRANSDÉRMICAMENTE EN PERRAS OVARIOHISTERECTOMIZADAS**

##### **4.4.1. Material y métodos**

###### **a. Animales**

Para la realización de esta fase se emplearon 24 perras que debían ser sometidas a una ovariectomía (OHE). Después de informar sobre el procedimiento experimental, los propietarios emitieron su consentimiento y autorización para incluir los animales en el presente estudio.

Los animales, con pesos entre 9-16 kg, fueron considerados clínicamente sanos después de realizar un examen físico y una analítica completa. Ninguno presentaba signos de dolor antes de la cirugía, ni habían recibido previamente analgésicos opioides ni antiinflamatorios.

###### **b. Grupos**

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos diferentes (n= 8) dependiendo del tratamiento analgésico al que serían sometidos.

La distribución de los grupos fue la siguiente:

Grupo 1 (control): sin analgesia.

Grupo 2: buprenorfina vía subcutánea a 20 µg/kg

Grupo 3: buprenorfina transdérmica mediante un parche de 70 µg/h.

Para conocer el comportamiento del animal, facilitar la aclimatación y evitar posibles alteraciones, estos permanecieron tres días en las instalaciones antes de iniciar el estudio.

###### **c. Procedimiento experimental**

###### **c.1. Preparación de los animales**

Todos los animales tuvieron un ayuno sólido 8 horas antes de iniciar la cirugía, disponiendo de agua en todo momento.

Los animales del grupo 1 no fueron premedicados y no recibieron analgesia postoperatoria.

Los animales del grupo 2 recibieron treinta minutos antes de la inducción anestésica una dosis de 20 µg/kg de buprenorfina vía SC. Dicha dosis se administró cada 6 horas hasta las 38 horas postquirúrgicas.

A los animales del grupo 3 se les aplicó un parche de buprenorfina de 70 µg/h 48 horas antes de la cirugía. Este fue en la zona lateral izquierda del tórax (Fig. 37 y 38). El área de aplicación fue rasurada y aspirada. Al colocar el parche se ejerció una presión con la mano durante un minuto para asegurar un buen contacto con la piel.



Fig. 37. Zona lateral del tórax rasurada.



Fig. 38. Zona lateral del tórax tras la aplicación del parche en diferentes animales (A) y (B).

Posteriormente se protegió este con un film adhesivo transparente (OpSite®, Smith & Nephew Medical Limited) (Fig. 39), y el tórax fue vendado con una venda de fijación cohesiva (Askina® haft color, B | Braun) (Fig. 40). Los animales del grupo 3 recibieron la analgesia postoperatoria a través del parche de buprenorfina. Este

fue retirado a las 168 horas de su aplicación.



Fig. 39. Zona lateral del tórax tras la aplicación del film adhesivo transparente.

Esta fase fue un estudio ciego donde el investigador principal no sabía qué tipo de analgesia se había aplicado al animal.

Para ello todos los animales llevaron un vendaje en el tórax y eran medicados subcutáneamente con el mismo volumen de suero fisiológico salino (grupo 1 y 3) o buprenorfina (grupo 2). Cada 48 horas fue realizado un cambio del vendaje, y un control del parche (grupo 3), por un investigador diferente al que debía realizar la valoración del dolor.

## c.2. Protocolo anestésico

La inducción anestésica se realizó con un bolo de tiopental (Tiobarbital sódico®, B | Braun) de 5 – 10 mg/kg y diazepam (Valium®, Roche Farma SA) de 0,5 mg/kg IV administrados a través de un catéter periférico de poliuretano de 18G colocado en la vena cefálica.

Tras la inducción, se intubó al animal y se realizó el mantenimiento anestésico mediante halotano (Fluothane, Astrazeneca Farmacéutica Spain SA) al 1,5 – 2 % en 100% de oxígeno (150 mL/kg/min.) a través de un circuito semiabierto tipo Mapleson D (Bain).

Durante la intervención se permitió la respiración espontánea de todos los animales.



Fig. 40. Aspecto final del vendaje torácico en dos animales (A) y (B).

En el periodo perioperatorio, la fluidoterapia administrada consistió en una solución de Ringer Lactato a una velocidad de infusión de 10 mL/kg/h mediante una bomba de infusión

(Medfusion 2010 Syringe Pump, Medelinx).

Todos los animales recibieron una dosis de antibiótico intravenoso (cefalexina, 20 mg/kg) a través del catéter de la vena cefálica y hasta las 72 horas del postoperatorio.

Los animales fueron monitorizados (temperatura corporal, frecuencia cardíaca, electrocardiografía, pulsioximetría, frecuencia respiratoria, capnografía y presión arterial invasiva) mediante un monitor Datex Ohmeda Cardiocap II (Fig. 41) durante todo el procedimiento anestésico y hasta su total recuperación.



Fig. 41. Monitorización perioperatoria de los animales intervenidos de OHE.

### c.3. Técnica quirúrgica

La OHE se realizó mediante una laparotomía media con una técnica convencional (Fig. 42).

El animal fue colocado en decúbito dorsal y el campo quirúrgico se preparó asépticamente. Después de realizar la laparotomía media, se localizaron y aislaron los ovarios. Se realizaron dos ligaduras apoyadas en cada pedículo ovárico utilizando material sintético reabsorbible.

El cuerpo uterino se ligó realizando dos ligaduras dobles apoyadas de los vasos uterinos de un lado y el otro, utilizando un material sintético reabsorbibles monofilamento (Monosyn ®, B | Braun).

El cierre de la musculatura abdominal y del subcutáneo se realizó mediante un patrón continuo utilizando material sintético reabsorbible monofilamento (Monoplus ®, B | Braun). La piel fue suturada con un patrón continuo subcuticular.

Los anestésicos generales fueron retirados al finalizar la sutura de la piel. El suministro de oxígeno se mantuvo hasta retirar el tubo endotraqueal.

#### **c.4. Evaluación del dolor postoperatorio**

La evaluación del dolor fue realizada siempre por el mismo investigador, supervisado por un veterinario con amplia experiencia en las escalas utilizadas en el presente estudio: NRS y UMPS.

Dicha evaluación se realizó en los tiempos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 20, 26, 32 y

38 horas después de la extubación del animal.

Para la escala NRS se adjudicó una puntuación entre 0 y 10, siendo 0 un valor de no dolor y 10 el máximo dolor posible. Los animales fueron evaluados mediante esta escala antes de la valoración con la UMPS.

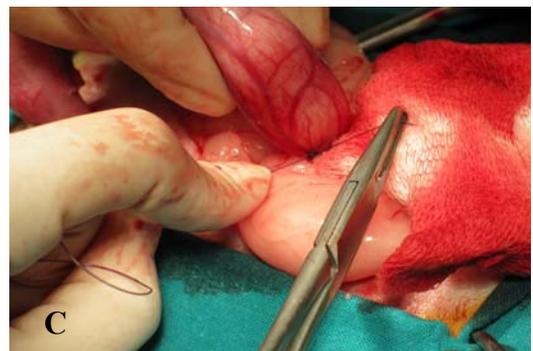
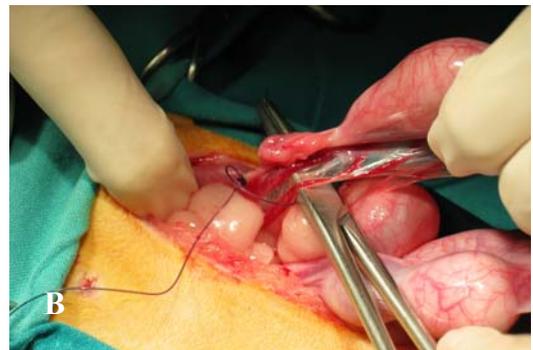


Fig. 42. Imágenes de la ovariohisterectomía (A), (B) y (C).

Para la valoración UMPS, la actividad, estado mental, postura, vocalización y frecuencia respiratoria fueron evaluadas antes de interaccionar con el animal. Para ello se permanecía entre 5-10 min. observando el comportamiento del animal. Transcurrido este tiempo eran evaluadas la frecuencia cardíaca y la temperatura.

La última variable a evaluar era la palpación de la herida quirúrgica. Esta era presionada con la mano observando la reacción del animal.

#### **d. Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS (v14.0.2, 2006).

La comparación de los datos obtenidos fue analizada mediante un análisis de la varianza de un factor (ANOVA). Los resultados de la actividad y estado mental fueron transformados logarítmicamente para poder ser analizados mediante el ANOVA.

Las comparaciones a posteriori entre tratamientos 2 a 2 se efectuaron si la prueba F global era significativa aplicando un test post-hoc de Bonferroni.

Los resultados obtenidos en la palpación, fueron analizados mediante una prueba no paramétrica de Mann-Whitney al no seguir una distribución normal.

Para todas las comparaciones el nivel de significación aceptado para las diferencias fue de  $P < 0,05$ .

### **4.4.2. Resultados**

#### **a. Escala NRS**

En la Fig. 43 se muestra la puntuación media NRS en los tres grupos.

Se observaron diferencias significativas entre los grupos durante las 0-32 horas.

La puntuación media NRS fue significativamente más elevada en el grupo 1 ( $5,42 \pm 0,38$ ) al compararla con el grupo 2 ( $2,56 \pm 0,23$ ) y el grupo 3 ( $2,02 \pm 0,24$ ) ( $p < 0,0001$ ).

No hubo diferencias significativas en la media de puntuaciones entre la administración subcutánea (grupo 2) y la transdérmica (grupo 3).

#### **b. Escala UMPS**

##### **b.1. Puntuación media**

En la Fig. 44 pueden observarse las puntuaciones medias en la escala UMPS para los tres grupos en estudio.

Se observaron diferencias significativas desde las 0-32 horas entre grupos al analizar globalmente las puntuaciones medias en la escala UMPS.

La valoración UMPS fue significativamente más elevada en los

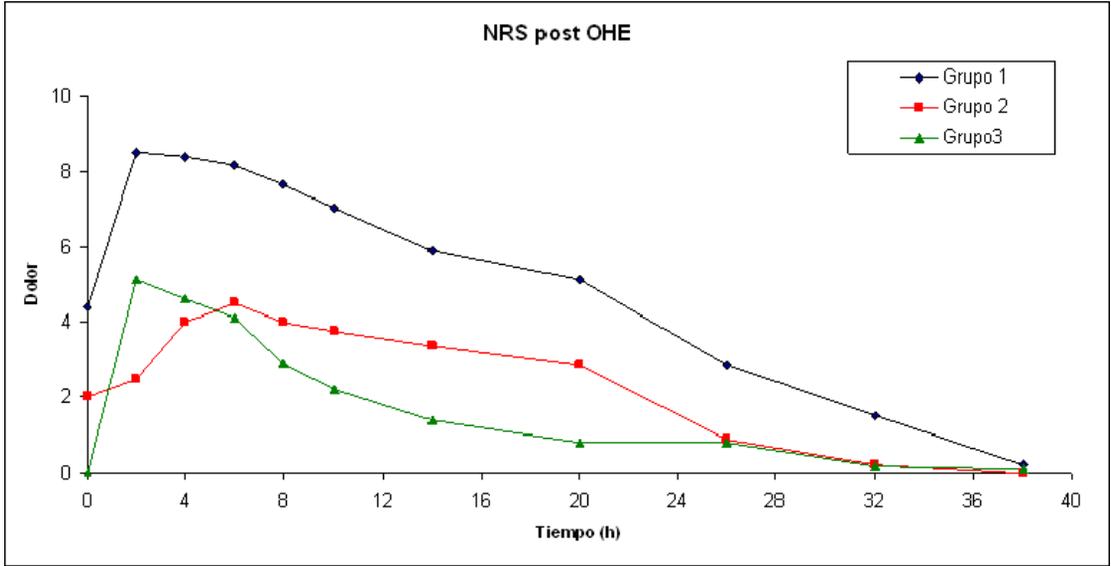


Fig. 43. Puntuación media de dolor en 24 perras post OHE utilizando la escala NRS. Grupo 1: sin analgesia; Grupo 2: buprenorfina subcutánea, 20 µg/kg/6 horas. Grupo 3: parche buprenorfina 70 µg/h.

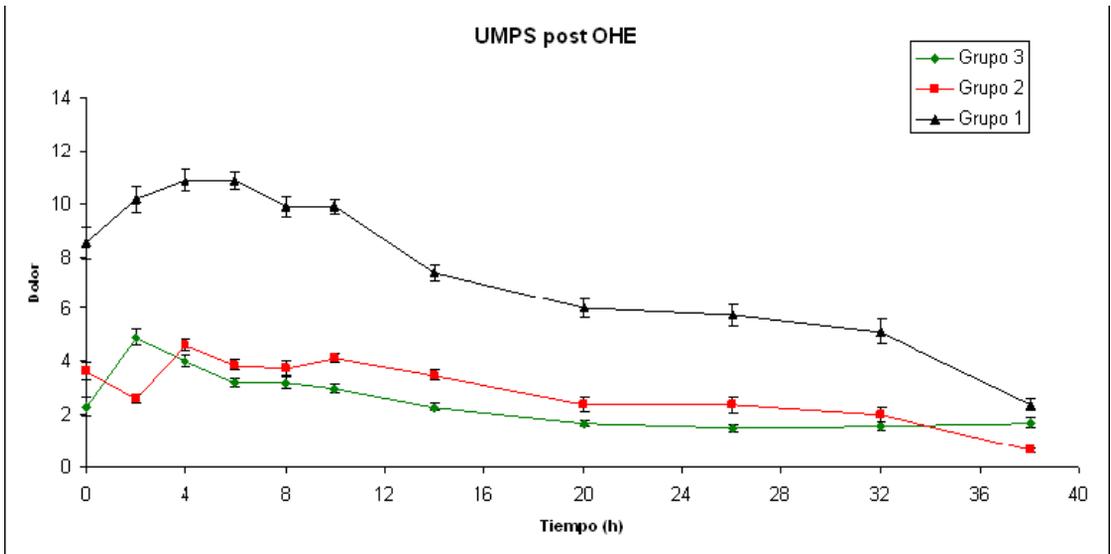


Fig. 44. Puntuación media de dolor en 24 perras post OHE utilizando la escala UMPS modificada. Grupo 1: sin analgesia; Grupo 2: buprenorfina subcutánea, 20 µg/kg/6 horas. Grupo 3: parche buprenorfina 70 µg/h.

animales sin tratamiento analgésico ( $7,89 \pm 0,44$ ) respecto a los animales con buprenorfina subcutánea ( $3,05 \pm 0,27$ ) y transdérmica ( $2,67 \pm 0,23$ ) ( $p < 0,0001$ ). No hubo diferencias

significativas en la media de puntuaciones entre la administración subcutánea y transdérmica de buprenorfina.

## b.2. Estudio de las variables dos a dos

Al comparar las diversas variables dos a dos se observaron diferencias significativas.

### b.2.1. Variables fisiológicas

Se observaron diferencias significativas desde las 0-32 horas entre grupos al analizar las puntuaciones medias de los parámetros fisiológicos.

#### Frecuencia cardíaca

La frecuencia cardíaca fue significativamente menos elevada ( $p < 0,007$ ) en los animales del grupo 3 ( $0,14 \pm 0,04$ ) comparada con el grupo 1 ( $0,59 \pm 0,09$ ) y el grupo 2 ( $0,44 \pm 0,08$ ) (grupo 2).

#### Frecuencia respiratoria

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre el grupo 1 ( $0,8 \pm 0,08$ ) y los grupos 2 ( $0,19 \pm 0,06$ ) y 3 ( $0,32 \pm 0,08$ ).

#### Temperatura

Al estudiar la temperatura la puntuación media fue más elevada, existiendo diferencias significativas ( $p < 0,002$ ) en los animales del grupo 1 ( $0,57 \pm 0,05$ ) respecto al grupo 2 ( $0,2 \pm 0,04$ ) y el grupo 3 ( $0,33 \pm 0,05$ ).

### b.2.2. Variables comportamentales

Las puntuaciones medias en los parámetros comportamentales de la UMPS pueden observarse en la Fig. 45.

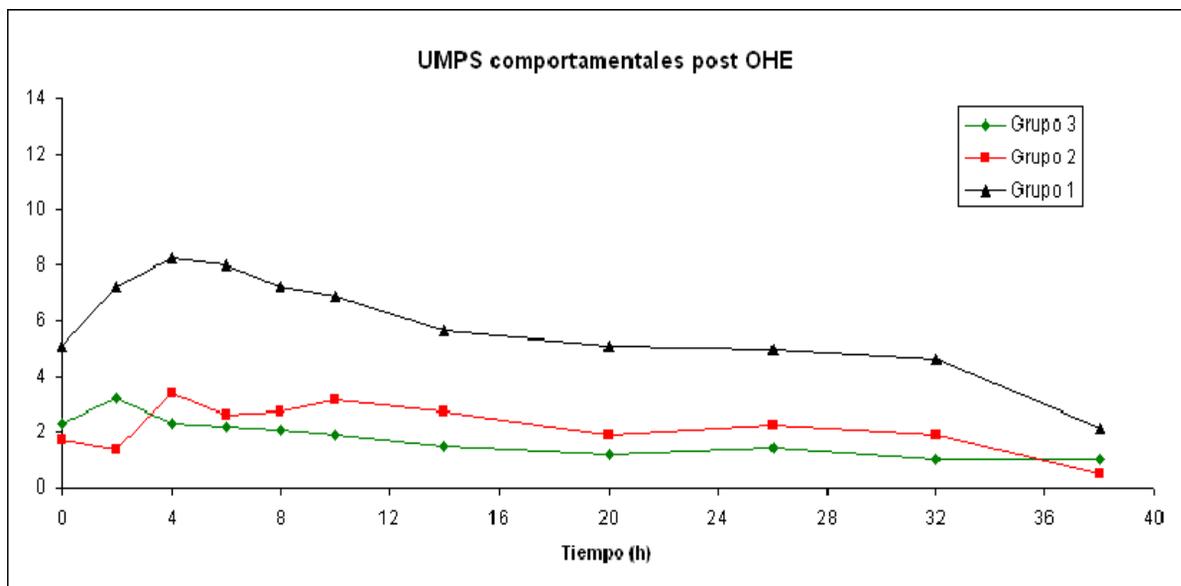


Fig. 45. Puntuación media de dolor en 24 perras post OHE utilizando los parámetros comportamentales de la UMPS. Grupo 1: sin analgesia; Grupo 2: buprenorfina subcutánea, 20 µg/kg/6 horas. Grupo 3: parche buprenorfina 70 µg/h.

Se observaron diferencias significativas desde las 0-32 horas entre grupos al analizar globalmente las puntuaciones medias de los parámetros comportamentales.

La valoración de las variables comportamentales fue significativamente más elevada en los animales del grupo 1 ( $5,76 \pm 0,3$ ) respecto a los animales del grupo 2 ( $2,20 \pm 0,21$ ) y del grupo 3 ( $1,89 \pm 0,18$ ) ( $p < 0,0001$ ). No hubo diferencias entre la administración subcutánea y transdérmica.

### Palpación

El valor medio para los animales sin analgesia fue de  $1,53 \pm 0,1$ , en los animales con buprenorfina subcutánea fue de  $0,52 \pm 0,09$  y en los animales con buprenorfina transdérmica fue de  $0,55 \pm 0,09$ . Se apreciaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre el grupo 1 y los grupos 2 y 3.

En la mayoría de los animales con respuesta a la palpación fue cuando la herida quirúrgica era tocada (Fig. 46).

### Actividad

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,013$ ) en los animales no tratados (grupo 1) ( $1,17 \pm 0,07$ ) al compararlos con los animales del grupo 2 ( $0,57 \pm 0,06$ ) y grupo 3 ( $0,48 \pm 0,06$ ).

Seis de los animales del grupo 1, uno del grupo 2 y uno del grupo 3 estuvieron paseando continuamente, inquietos, durante las 10 primeras horas

después de la cirugía. A partir de este periodo, los animales estaban descansando o durmiendo e interaccionaban con el observador cuando este se acercaba a ellos

### Estado mental

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre el grupo 1 ( $1 \pm 0,06$ ) y el grupo 2 ( $0,22 \pm 0,06$ ) y 3 ( $0,23 \pm 0,05$ ). Los animales que presentaron cambios en su estado mental pasaron de ser amigables a desconfiados.

### Postura

Se apreciaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) al valorar la postura entre el grupo 3 (administración transdérmica) ( $0,3 \pm 0,06$ ) y los grupos 1 ( $0,67 \pm 0,07$ ) y 2 ( $0,6 \pm 0,05$ ).

Cuando los animales manifestaban alteraciones en la postura principalmente estaban de pie con la cabeza erguida o baja (Fig. 47).



Fig.46. Reacción del animal tras la palpación de la herida quirúrgica.

### Vocalización

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre el grupo 1 ( $1,39 \pm 0,1$ ) y los grupos 2 ( $0,3 \pm 0,08$ ) y 3 ( $0,34 \pm 0,08$ ).

Seis de los animales sin analgesia presentaron vocalización intermitente y al palpar la herida durante las 38 horas, las 2 perras restantes no vocalizaron durante el estudio. En los animales de los grupos 2 y 3 la vocalización se expresaba normalmente de forma intermitente durante las primeras 6 horas postoperatorias.



Fig. 47. Animal con una postura de dolor.

VARIABLE	TIEMPO											
	0	2	4	6	8	10	14	20	26	32	38	
<b>Fisiológicos</b>												
Grupo 1	3,3	2,8	2,6	2,8	2,5	2,1	1,7	0,9	0,75	0,5	0,25	
Grupo 2	1,9	1,2	1,2	1,2	1	1	0,7	0,5	0,1	0,1	0,1	
Grupo 3	0	1,7	1,7	1	1,1	1,1	0,8	0,5	0,1	0,6	0,7	
<b>Palpación</b>												
Grupo 1	1,4	2,4	2,4	2,1	2	1,75	1,5	1,5	1,5	1,5	0,75	
Grupo 2	0,25	0,25	1,25	1	1	1	0,5	0,25	0,25	0	0	
Grupo 3	0	0,8	0,6	0,6	0,6	0,8	0,6	0,6	0,6	0,4	0,4	
<b>Actividad</b>												
Grupo 1	0,9	1,5	1,75	1,75	1,6	1,5	0,75	0,9	0,9	0,9	0,5	
Grupo 2	0,4	0,25	0,5	0,5	0,6	0,5	0,75	0,75	0,9	0,9	0,2	
Grupo 3	0,7	0,7	0,8	0,4	0,7	0,3	0,2	0,3	0,4	0,6	0,4	
<b>Estado Mental</b>												
Grupo 1	0,9	1,1	1,4	1,25	1,25	1,25	1,1	0,9	0,9	0,75	0,25	
Grupo 2	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4	0,4	0,25	0	0	0,25	0,1	
Grupo 3	1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0	0	0	0	
<b>Postura</b>												
Grupo 1	0,1	0,6	1,25	1,4	0,9	0,9	0,75	0,6	0,5	0,25	0,1	
Grupo 2	0,25	0,5	0,75	0,5	0,5	0,75	0,75	0,9	0,9	0,75	0,1	
Grupo 3	0,6	0,3	0,1	0,5	0,5	0,4	0	0,1	0,2	0	0	
<b>Vocalización</b>												
Grupo 1	1,9	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25	1,25	0,5	
Grupo 2	0,75	0,25	0,5	0,25	0,25	0,5	0,5	0	0,25	0	0	
Grupo 3	0	1,2	0,6	0,6	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0	0,2	

Fig. 48. Puntuación media por categorías en cada tiempo de observación. Grupo 1: Sin analgesia; Grupo 2: buprenorfina subcutánea, 20 µg/kg/6 horas; Grupo 3: buprenorfina transdérmica, 70µg/h.

### c. Efectos secundarios de la administración de buprenorfina

Durante el periodo de estudio no se observaron efectos adversos importantes debidos a la administración transdérmica o parenteral de la buprenorfina.

Se apreció una ligera sedación en 6 de los animales a los que se aplicó el parche de buprenorfina. Dicha sedación se observó entre las 30 - 40 horas postaplicación.

Asimismo, se observó que a partir de las 124 – 130 horas hasta la finalización del estudio, todos los animales tuvieron prurito en la zona de aplicación del parche.

Al retirar este a las 168 horas, todos los animales presentaban una fuerte reacción cutánea en la zona de contacto, con la presencia de eritemas y pápulas, y crecimiento del pelo en el área rasurada (Fig. 50).



Fig. 49. Aspecto del parche de buprenorfina a las 168 horas tras su aplicación en cuatro animales.

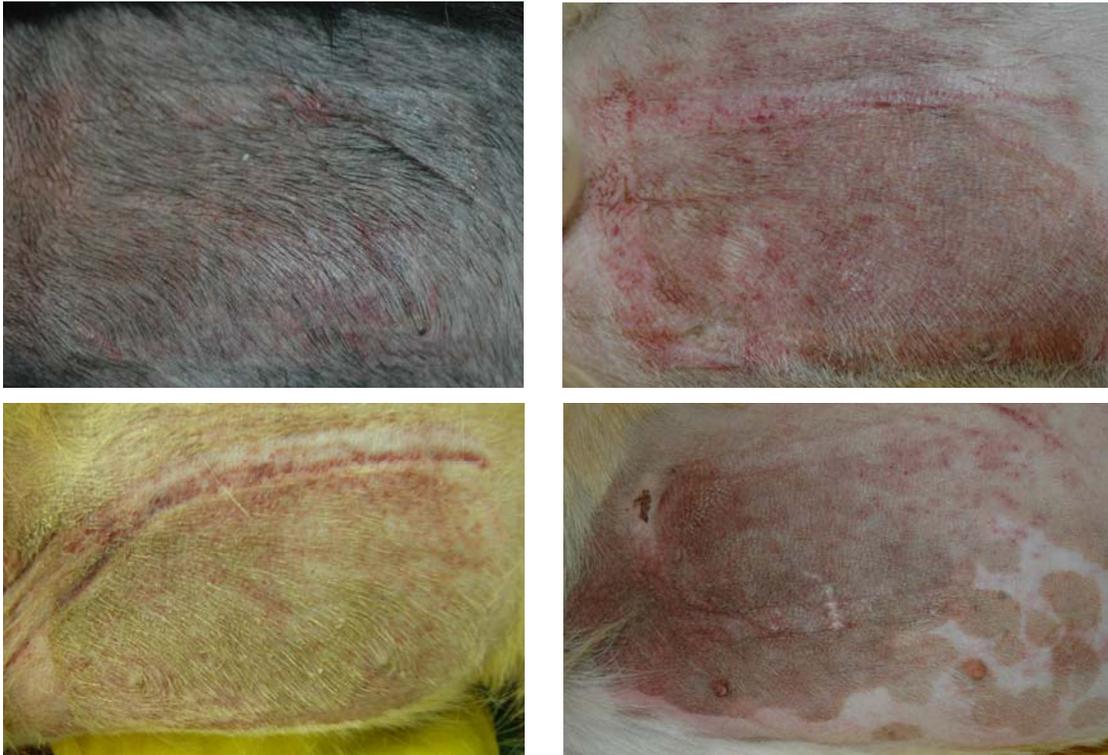


Fig. 50. Reacción cutánea a las 168 horas de la colocación del parche de buprenorfina de 70 µg/h.

#### 4.4.3. Discusión

El dolor es una experiencia emocional y sensitiva desagradable asociada a una lesión, potencial o real, de los tejidos. Todos los animales experimentan dolor, pero teniendo en cuenta la incapacidad de estos para expresarse con palabras y que el dolor es un proceso multifactorial, la interpretación de la nocicepción en medicina veterinaria es un proceso complejo y difícil.

En la actualidad para evaluar la efectividad analgésica de un fármaco pueden utilizarse tests analgesiómetros, parámetros fisiológicos/bioquímicos y/o

escalas de dolor (Serrano-Atero *et al.*, 2002).

Los tests analgesiómetros se fundamentan en la reacción del animal tras la aplicación de un estímulo doloroso (térmico, químico, mecánico...) con y sin la administración del analgésico a estudio, de tal forma que permite establecer la eficacia analgésica del fármaco. Diversos tests, utilizando diferentes vías de administración, han demostrado su eficacia para valorar la analgesia de la buprenorfina en medicina veterinaria (Roughan y Flecknell, 2002; Meert y Vermerisch, 2005; Robertson *et al.*,

2005; Steagall *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2007). Sin embargo, estos normalmente dan una medida de los efectos antinociceptivos de los fármacos sin tener una visión global de los mecanismos neurológicos, inflamatorios y de lesiones en el tejido presentes en el dolor clínico o postoperatorio. Asimismo, dependiendo de la especie, del test realizado para determinar la analgesia y del tipo de estímulo nocivo (agudo o crónico), los resultados obtenidos con un mismo fármaco pueden ser diferentes (Roughan y Flecknell, 2002; Meert y Vermerisch, 2005). Así, cuando se quieren realizar recomendaciones analgésicas y/o dosificaciones de un analgésico no es aconsejable utilizar un solo test (Roughan y Flecknell, 2002; Steagall *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2007).

Por otro lado, el dolor se acompaña de una serie de alteraciones comportamentales y vegetativas (apartado 2.1.3.) que se manifiestan con cambios bioquímicos. Todo esto ha propiciado la aparición de diversos estudios orientados a buscar posibles correlaciones entre los niveles de dichas sustancias y el grado de dolor (Fox *et al.*, 1998; Dobbins *et al.*, 2002; Serrano-Atero *et al.*, 2002; Hielm-Björkman, 2003; Möllenhoff *et al.*, 2005). No obstante, los resultados han sido inespecíficos ya que cualquier situación de estrés, asociada o no a la presencia de dolor, puede provocar alteraciones bioquímicas, dificultando la interpretación de estos (Fox *et al.*, 1998; Dobbins *et al.*, 2002; Hielm-Björkman, 2003; Möllenhoff *et al.*, 2005).

Como se ha mencionado anteriormente, el dolor es un proceso multifactorial, y debido a ello parece más apropiado realizar ensayos clínicos cuando se pretenden valorar a nivel clínico la dosis y efectividad antinociceptiva de los fármacos (Roughan y Flecknell, 2002). Con este objetivo se han diseñado diversas escalas de dolor (apartado 2.1.5.).

Las escalas semiobjetivas (SDS, VAS, NRS...) pueden definirse como metodologías unidimensionales, pues tratan el dolor como una dimensión única o simple y valoran exclusivamente su intensidad (Serrano-Atero *et al.*, 2002). A pesar de presentar una elevada variabilidad entre diferentes observadores y tener una menor sensibilidad en las primeras horas del postoperatorio, son las escalas más utilizadas para valorar el dolor en medicina veterinaria (Holton *et al.*, 2001; Morton *et al.*, 2005). En el presente estudio hemos utilizado la NRS al ser la escala semiobjetiva más indicada para valorar el dolor en perros [Holton *et al.* (a), 1998].

Las escalas comportamentales (UMPS, Glasgow) podrían definirse como métodos multidimensionales donde se valora el dolor teniendo en cuenta su intensidad, cualidad y aspectos emocionales o conductuales (Serrano-Atero *et al.*, 2002). Considerando la complejidad del dolor, la necesidad de medirlo cuantitativamente y que la simple observación es un método inadecuado para valorarlo (Roughan y Flecknell, 2002; Shih *et al.*, 2007), parece más apropiado utilizar

metodologías multidimensionales cuantitativas, como la UMPS, para evaluar el dolor. En el presente estudio hemos utilizado la UMPS por los siguientes motivos. En primer lugar, es una escala validada por diversos estudios y ha permitido valorar el dolor tras una OHE (Firth y Haldane, 1999; Lucas *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2002; Hancock *et al.*, 2005). Ha conseguido diferenciar entre perros anestesiados sin cirugía y perros operados con o sin analgesia (Firth y Haldane, 1999). Y en tercer lugar, ha mostrado una buena correlación de resultados entre diferentes observadores (Firth y Haldane, 1999; Wagner *et al.*, 2002).

Uno de los inconvenientes de la UMPS es la utilización de valores fisiológicos como referencias de la intensidad del dolor. Diversos trabajos han mostrado poca o escasa sensibilidad para valorar el dolor postoperatorio utilizando parámetros fisiológicos [Conzemius *et al.*, 1997; Hardie *et al.* (a), 1997; Holton *et al.* (b), 1998; Mathews *et al.*, 2001]. Estos pueden alterarse por diferentes causas como el miedo, el estrés, fármacos utilizados durante la anestesia, analgésicos opioides... de tal forma que pueden sobre o subestimar la nocicepción de los animales a estudio. De hecho, diversos autores no recomiendan incluir estos parámetros en el diseño de escalas multidimensionales (Holton *et al.*, 2001; Morton *et al.*, 2005). Por este motivo en nuestro estudio los parámetros fisiológicos y comportamentales han sido tratados tanto conjuntamente como por separado.

En nuestro estudio, al evaluar las puntuaciones medias entre los diferentes grupos, utilizando las escalas NRS y UMPS, hemos observado una disminución significativa de estas al administrar la buprenorfina vía subcutánea o transdérmica, sin apreciarse diferencias entre las dos vías. Estos resultados indican que los efectos analgésicos de la buprenorfina en perras ovariectomizadas son similares tanto si se aplica un parche de 70 µg/h como si se administra subcutáneamente 20 µg/kg cada 6 horas. Al evaluar los resultados utilizando únicamente los valores comportamentales, también se observa una disminución significativa en la puntuación media en los diferentes tiempos, indicando un efecto antinociceptivo similar de la buprenorfina en las dos administraciones estudiadas.

Son pocos los estudios que evalúan la efectividad de la buprenorfina vía parenteral en perras ovariectomizadas. Shih *et al.* (2007) compararon los efectos analgésicos de la buprenorfina con el carprofeno para la realización de una OHE en perras. En este estudio se observó que la analgesia proporcionada tras la administración intramuscular de un bolo de 20 µg/kg era similar a la obtenida tras la administración de 4 mg/kg de carprofeno SC. Resultado que sugiere un efecto similar en las dos administraciones estudiadas.

En la especie felina, la buprenorfina vía SC ha mostrado una buena efectividad analgésica tras la realización de una OHE (Slingsby y Waterman-

Pearson, 1998; Gassel *et al.* 2005). No obstante, al comparar la analgesia de la buprenorfina con el carprofeno los resultados obtenidos son controvertidos. Mientras Steagall *et al.* (2007) muestran una mejor analgesia de la buprenorfina respecto al carprofeno, Taylor *et al.* (2007) encontraron ligeramente más efectivo al carprofeno respecto a la buprenorfina. Las diferentes metodologías utilizadas para evaluar el dolor parecen ser las responsables de estas discrepancias. Steagall *et al.* (2007) realizan tests analgesiómetros mediante estímulos de presión y térmicos, y Taylor *et al.* (2007) utilizan estímulos de presión en una zona inflamada.

La efectividad analgésica de los parches de buprenorfina ha sido evaluada únicamente en la especie felina (Murrell *et al.*, 2007). En este estudio no se apreció analgesia tras la aplicación de un parche de 30 µg/h en la especie felina. La farmacocinética de la buprenorfina en sus receptores (lenta asociación con un inicio de acción antinociceptora tardía); la utilización de un solo test analgesiómetro, que mide un tipo de estímulo nociceptivo sin evaluar todas las vías involucradas en el dolor clínico (Tyers, 1980, Sadée *et al.*, 1982; Meert y Vermerisch, 2005; Steagall *et al.*, 2006; Steagall *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2007); así como la aplicación del parche de menor tamaño y la elevada variabilidad individual que presentan los opioides en la especie felina [Slingsby y Waterman-Pearson, 1998; Hofmeister y Egger, 2004; Lascelles y Robertson (a), 2004; Robertson *et al.*, 2005] pueden ser

responsables de las discrepancias con nuestro estudio. Estas diferencias muestran la necesidad de realizar más estudios, en ambas especies, para valorar la farmacocinética/dinamia de la buprenorfina administrada transdérmicamente en sus diferentes presentaciones comerciales.

En el presente estudio además de evaluar la acción analgésica de la buprenorfina vía subcutánea o transdérmica en OHE de perras, hemos podido documentar los cambios que sufren los animales tras someterlos a una anestesia junto a una cirugía con o sin analgesia.

Al evaluar la puntuación media en la UMPS (Fig. 44) podemos observar, en todos los grupos, una valoración inferior durante las 2-4 primeras horas del postoperatorio respecto al periodo de 4-10 horas. De hecho, resultados similares han sido descritos por diferentes autores [Hardie *et al.* (b), 1997; Firth y Haldane, 1999; Fox *et al.*, 2000]. Los efectos residuales de los anestésicos, en nuestro caso el halotano y el tiopental, junto a un aumento del sueño, una disminución de la respuesta a estímulos positivos y una disminución del movimiento, secundarios al dolor que sufren los animales sometidos a cirugía, pueden ser los responsables de estos resultados [Hansen, 1997; Hardie *et al.* (b), 1997; Fox *et al.*, 2000]. Asimismo, en nuestro trabajo estos efectos los podemos observar durante un mayor tiempo en los animales sin analgesia respecto a los animales que han recibido buprenorfina subcutánea o transdérmicamente, mostrando el efecto

analgésico de la buprenorfina en las dos administraciones estudiadas; y como sucede con otros analgésicos mejorando la recuperación de los animales [Hardie *et al.* (b), 1997; Firth y Haldane, 1999; Fox *et al.*, 2000; Lamont *et al.*, 2000; Lucas *et al.*, 2001; Caulket *et al.*, 2003; Laredo *et al.*, 2004; Shih *et al.*, 2007].

Por otro lado, al valorar la nocicepción en los animales sin analgesia, podemos observar una disminución en la puntuación media a partir de las 10 horas, siendo alrededor de 6 entre las 20-32 horas y menor de 2,5 a las 38 horas. Estos resultados pueden indicarnos que la nocicepción durante una OHE en perras debe abarcar un periodo mínimo de 38 horas, intervalo de tiempo superior a las 24 horas observada por diversos estudios [Hardie *et al.* (b), 1997; Firth y Haldane, 1999; Fox *et al.*, 2000; Caulket *et al.*, 2003; Shih *et al.*, 2007]. Estas divergencias pueden ser debidas a los diferentes periodos de estudio; nuestro trabajo finaliza a las 38 horas mientras que en el resto es a las 24 horas. De hecho, Morton *et al.* (2005) muestran que tras la realización de una cirugía de tejidos blandos, los animales pueden presentar molestias durante 10-14 días.

En nuestro estudio, al evaluar la actividad y postura de los animales hemos observado, durante las primeras 10 horas, que las perras con dolor (6 del grupo control y 2 de los grupos con buprenorfina) estuvieron paseando continuamente de forma inquieta y/o estaban de pie con la cabeza erguida o

baja. Estos comportamientos han sido descritos en OHE de perras (Firth y Haldane 1999; Fox *et al.*, 2000) y la escasa incidencia de ellos en los grupos 2 y 3 muestran como la buprenorfina transdérmica y SC ejerce un efecto analgésico superior al suero fisiológico.

Al valorar la respuesta a la palpación se obtuvieron las puntuaciones más elevadas en los animales sin analgesia y en el grupo que recibió buprenorfina transdérmica. En el grupo de animales con buprenorfina subcutánea no se alcanzaron las mayores puntuaciones, pero igualmente fueron de las más elevadas. Estos resultados han permitido mostrar dos hechos. En primer lugar, al realizar una valoración del dolor la palpación de la herida quirúrgica o del área donde se halla la lesión mejorará la sensibilidad de la escala utilizada. De hecho, Lascelles *et al.* (1998), Gassel *et al.*, (2005) y Shih *et al.* (2007) mejoraron la sensibilidad de la VAS (escala semiobjetiva) al incorporar la palpación de la herida quirúrgica para evaluar el dolor en OHE de perras y gatas. En segundo lugar, aunque la buprenorfina vía subcutánea y transdérmica ha mostrado ser efectiva para el control del dolor en OHE de perras, la analgesia que produce parece ser incompleta, ya que los animales reaccionan a la palpación de la herida quirúrgica hasta las 26-38 horas postoperatorias. La variación en la duración y efectividad analgésica debida a la vía de administración puede ser una posible causa de este resultado, ya que se ha descrito una aparición más tardía y un menor efecto tras la administración IM o SC de opioides,

respecto a la administración intravenosa [Lascelles y Robertson (b), 2004; Wegner *et al.*, 2004; Steagall *et al.*, 2006; Steagall *et al.*, 2007].

En el presente estudio, al evaluar la vocalización de los animales hemos tenido dificultades en su interpretación. Pues los animales que vocalizaban de forma intermitente (6 del grupo 1, 2 del grupo 2 y 3 del grupo 3), principalmente fueron en las primeras 6 horas del postoperatorio y fue difícil discernir si esta era secundaria al dolor o a otras causas, como por ejemplo la disforia/somnolencia al despertar. Watson *et al.* (1996) consideraron la vocalización como uno de los comportamientos más difíciles de interpretar al evaluar el dolor, pudiendo contribuir a una puntuación muy elevada de este. O por el contrario, un paciente inmóvil y silencioso puede experimentar un dolor máximo y debido a la ausencia de vocalización la puntuación total puede ser subestimada.

Al evaluar las variables fisiológicas en nuestro estudio hemos observado diferencias significativas durante las 0-32 horas en la FC entre el grupo 3 (parche) y el grupo 1 y 2 (sin analgesia y subcutáneo), mientras que en la FR y la temperatura las diferencias se observan entre el grupo 1 y el 2 y 3. Estos resultados, junto a la buena analgesia obtenida con la buprenorfina administrada subcutánea y transdérmicamente [según la NRS (Fig. 41) y la valoración de los parámetros comportamentales (Fig. 45)], pueden indicar, igual que otros autores [Conzemius *et al.*, 1997; Hardie *et al.*

(a), 1997; Holton *et al.* (b), 1998; Mathews *et al.*, 2001], que los parámetros fisiológicos no reflejan con exactitud la intensidad del dolor postoperatorio en el perro.

En nuestro trabajo hemos aplicado el parche durante 168 horas (7 días), de las cuales 120 h (5 días) correspondieron al postoperatorio, ya que en clínica de pequeños animales los perros y gatos sometidos a cirugía suelen recibir analgesia postoperatoria durante 3-5 días. Por otro lado, teniendo en cuenta que las concentraciones plasmáticas de la buprenorfina alcanzaron la fase estacionaria a partir de las 36 horas de la aplicación del parche (Fig. 36), a partir de las 48 horas la buprenorfina administrada transdérmicamente debería proporcionar analgesia en la especie canina. De hecho, los resultados obtenidos en este trabajo han confirmado esta hipótesis.

En nuestro estudio, al mantener el parche durante 168 horas han aparecido alteraciones cutáneas importantes que desaconsejan una única aplicación durante este periodo de tiempo. No obstante, las escasas alteraciones cutáneas tras 108 horas descritas en el apartado 4.3.2. podrían hacernos pensar en cambiar el parche de ubicación cada 4-5 días, periodo ligeramente superior al recomendado en medicina humana (AEMPS, 2006).

El presente estudio es el primero que evalúa la efectividad analgésica de la buprenorfina administrada subcutánea y transdérmicamente en la especie canina.

A pesar de mostrar que tras la aplicación de un parche de 70 µg/h la analgesia en OHE de perras (durante un periodo mínimo de 38 horas) es similar a la administración subcutánea a 20

µg/kg cada 6 horas, sería necesaria la realización de más estudios, utilizando las otras presentaciones del parche (35 y 52,5 µg/h), para establecer un régimen terapéutico.

## 5- CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos tras la realización y desarrollo de los procedimientos experimentales descritos, podemos concluir:

1. La técnica de radioinmunoensayo mediante isótopos de  $I^{125}$  marcados, desarrollada para la cuantificación de buprenorfina en orina humana, es un método válido para determinar niveles plasmáticos de buprenorfina a dosis terapéuticas en el perro.
2. La buprenorfina administrada en bolo único IV (20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sigue una cinética tricompartmental en el perro. La fase inicial se produce por una rápida distribución del fármaco hacia los tejidos más vascularizados. La segunda fase está limitada por los procesos de eliminación del fármaco; y la tercera fase puede representar la lenta disociación de la buprenorfina de las áreas donde está fuertemente unida (los receptores), pudiendo afectar a los efectos analgésicos que presenta este fármaco.
3. Tras la aplicación de un parche de buprenorfina de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$ , las concentraciones plasmáticas de buprenorfina aumentan progresivamente hasta las 36 – 48 horas, manteniéndose en una fase estacionaria como mínimo 108 horas.
4. Las concentraciones plasmáticas de buprenorfina durante la fase estacionaria, observadas tras la aplicación del parche de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$ , son superiores a la concentración mínima eficaz descrita para la especie humana.
5. Los efectos analgésicos de la buprenorfina administrada a una dosis de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  cada 6 horas son similares a los descritos tras la aplicación de un parche de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$  en perras ovariectomizadas.
6. La administración de buprenorfina vía subcutánea o transdérmica durante el pre y postoperatorio mejora la recuperación de los animales sometidos a una ovariectomía.
7. Los parámetros comportamentales son útiles para evaluar la analgesia postoperatoria y permiten distinguir los animales no tratados del resto.
8. Los parámetros fisiológicos no son útiles para evaluar la analgesia postoperatoria.
9. Las alteraciones cutáneas que se observan, tras la retirada del parche de buprenorfina de 70  $\mu\text{g}/\text{h}$  a las 168 horas, desaconsejan una única aplicación durante este periodo de tiempo.

## 6- BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) [on line]. Disponible desde URL: <https://sinaem4.agemed.es/consaem/fichasTécnicas.do?metodo=buscar>. [Acceso el 20 de Noviembre del 2006].
- Álvarez Gómez I, Tendillo FJ. Procedimientos experimentales: vías de administración, obtención de fluidos. En: Zúñiga JM, Tur JA, Milocco SN, Piñeiro R. *Ciencia i tecnología en protección y experimentación animal*. ed. Mc Graw-Hill/Interamericana de España. 2001:371-377.
- Andaluz A. Administración de propofol (2,6-Diisopropilfenol) en ovejas gestantes a término. Estudio del paso placentario, farmacocinética y efectos cardiovasculares, respiratorios y del equilibrio ácido-base en las madres y sus fetos. *Tesis Doctoral*. Departament de Medicina i Cirurgia Animal. Facultat de Veterinària de la UAB. 2004.
- Bailey PL, Stanley TH. Anestésicos opiáceos intravenosos. En: Miller RD. *Anestesia*. 4ª edición. ed. Harcourt Brace. 1998:280-357.
- Bloms-Funke P, Gillen C, Schuettler AJ, Wnendt S. Agonistic effects of the opioid buprenorphine on the nociceptin/OFQ receptor. *Peptides*. 2000; 21:1141-1146.
- Boas RA, Villiger JW. Clinical actions of fentanyl and buprenorphine. The significance of receptor binding. *British journal of anaesthesia*. 1985 Feb; 57(2):192-6.
- Böhme, K. Buprenorphine in a transdermal therapeutic system – A new option. *Clinical rheumatology*. 2002 Feb; 21 Suppl 1:S13-6.
- Branson KR, Gross ME. Agonistas y antagonistas opioides. En: Adams HR. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 2ª edición. ed. Acribia SA. 2003:283-314.
- Brewster D, Humphrey MJ, Mc leavy MA. The systemic bioavailability of buprenorphine by various routes of administration. *The journal of pharmacy and pharmacology*. 1981 Aug; 33(8):500-6.
- Brodbelt DC, Taylor PM, Stanway GW. A comparison of preoperative morphine and buprenorphine for postoperative analgesia for arthrotomy in dogs. *Journal of veterinary pharmacology therapeutics*. 1997 Aug; 20(4):284-289.
- Brown SA. Farmacocinética: Distribución y destino de los fármacos en el organismo. En: Adams HR. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. 2ª edición. ed. Acribia SA. 2003:13-56.

- Budd K (a). Buprenorphine: a review. En: *Evidence based medicine in practice* [on line]. Disponible desde URL: [http://www.grunenthal.de/cw/de\\_DE/pdf/cw\\_de\\_de\\_budd\\_2002\\_buprenorphine\\_a\\_review.pdf](http://www.grunenthal.de/cw/de_DE/pdf/cw_de_de_budd_2002_buprenorphine_a_review.pdf) [Acceso el 6 de Febrero del 2005].
- Budd K (b). Immunosuppressive effects induced by opioid analgesics. *International monitor on regional anaesthesia and pain management*. 2002; 14(1): 3-7.
- Bullingham RE, Mc Quay HJ, Moore A, Bennett MR. Buprenorphine kinetics. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1980 Nov; 28(5):667-72.
- Carregaro AB, Neto FJ, Beier SL, Luna SP. Cardiopulmonary effects of buprenorphine in horses. *American journal of veterinary research*. 2006 Oct; 67(10):1675-80.
- Carroll G Analgesics and associated drugs and supplements. En: Carroll G. *Small animal pain management*. ed. AAHA Press, 1998:58-59.
- Carroll G. Analgesics and pain. *The veterinary clinics of north america. small animal practice*. 1999 May; 29(3):701-17.
- Carroll G, Hooper RN, Boothe DM, Hartsfield SM, Randoll LA. Pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in goats. *American journal veterinary research*. 1999 Aug; 60(8):986-91.
- Caulkett N, Read M, Fowler D, Waldner C. A comparison of the analgesic effects of butorphanol with those of meloxicam after elective ovariohysterectomy in dogs. *The canadian veterinary journal*. 2003 Jul; 44(7):565-70.
- Chang SK, Riviere JE. Effect of humidity and occlusion on the percutaneous absorption of parathion in vitro. *Pharmaceutical research*. 1993 Jan; 10(1):152-5.
- Conzemius MG, Hill CM, Sammarco JL, Perkowski SZ. Correlation between subjective and objective measures used to determine severity of postoperative pain in dogs. *Journal of the american animal hospital association*. 1997 Jun 1; 210(11):1619-22.
- Coomes MW, Norling AH, Pohl RJ, Müller D, Fouts JR. Foreign compound metabolism by isolated skin cells from the hairless mouse. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1983 Jun; 225(3):770-7.

- Cowan A. Buprenorphine: new pharmacological aspects. *International journal of clinical practice*. 2003, Feb; 133:3-8.
- Cowan A, Doxey JC, Harry EJ. (a) The animal pharmacology of buprenorphine, an oripavine analgesic agent. *British journal of clinical pharmacology*. 1977 Aug; 60(4):547-54.
- Cowan A, Lewis JW, Macfarlane IR. (b) Agonist and antagonist properties of buprenorphine, a new antinociceptive agent. *British journal of clinical pharmacology*. 1977 Aug; 60(4):537-45.
- Davis MP. Buprenorphine in cancer pain. *Supportive care in cancer*. 2005 Nov; 13(11):878-87.
- Debrabandere L, Van Boven M, Daenens P. Development of a radioimmunoassay for the determination of buprenorphine in biological samples. *Analyst*. 1993 Feb; 118(2):137-43.
- Deng J, St. Clair M, Everett C, Reitman M, Star RA. Buprenorphine given after surgery does not alter renal ischemia/reperfusion injury. *Comparative medicine*. 2000 Dec; 50(6):628-32.
- Dobbins S, Brown N.O., Shofer F.S. Comparison of the effects of buprenorphine, oxymorphone hydrochloride, and ketoprofen for postoperative analgesia after onychectomy or onychectomy and sterilization in cats. *Journal of the american animal hospital association*. 2002; 38:507-514.
- Dobromylskyj P, Flecknell PA, Lascelles BD, Pascoe PJ, Taylor P, Waterman-Pearson A. Management of postoperative and other acute pain. En: Flecknell P & Waterman-Pearson A. *Pain management in animals*. ed. WB Saunders, 2000:81-145.
- Doménech J, Calpena AC, Boix A. Absorción percutánea. Procesos y dispositivos. En: *Biofarmacia y farmacocinética. Volumen II: Biofarmacia*. Editorial Síntesis, 1998: 407-439.
- Donaher PA, Welsh C. Managing opioid addiction with buprenorphine. *American family physician*. 2006 May 1; 73(9):1573-8.
- Dum JE, Herz A. In vivo receptor binding of the opiate partial agonist, buprenorphine, correlated with its agonistic and antagonistic actions. *British journal of clinical pharmacology*. 1981 Nov; 74(3):627-33.

- Edge WG, Cooper GM, Morgan M. Analgesic effects of sublingual buprenorphine. *Anaesthesia*. 1979 May; 34(5):463-7.
- Egger CM, Duke T, Archer J, Cribb PH. Comparison of plasma fentanyl concentrations by using three transdermal fentanyl patch sizes in dogs. *Veterinary surgery*. 1998 Mar-Apr; 27(2):159-66.
- Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *The journal of investigative dermatology*. 2005 Aug; 125(2):183-200.
- Elkader A, Sproule B. Buprenorphine. Clinical Pharmacokinetics in the treatment of opioid dependence. *Clinical pharmacokinetics*. 2005; 44(7):661- 80.
- Evans HC, Easthope SE. Transdermal buprenorphine. *Drugs*. 2003; 63(19):1999-2010.
- Firth AM, Haldane SL. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. *Journal of the american veterinary medical association*. 1999 Mar 1; 214(5):651-9.
- Flecknell PA. Animal pain – an introduction. En: Flecknell PA, Waterman-Pearson A. *Pain management in animals*. ed. WB Saunders, 2000:1-7.
- Foley PL, Henderson AL, Bissonette EA, Wimer GR, Feldman SH. Evaluation of fentanyl transdermal patches in rabbits: blood concentrations and physiologic response. *Comparative medicine*. 2001 Jun; 51(3): 239-44.
- Fox SM, Mellor DJ, Stafford KJ, Lowoko CR, Hodge H. The effects of ovariectomy plus different combinations of halothane anaesthesia and butorphanol analgesia on behaviour in the bitch. *Research in veterinary science*. 2000 Jun; 68(3):265-74.
- Gal TJ. Naloxone reversal of buprenorphine-induced respiratory depression. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1989 Jan; 45(1):66-71.
- Garrett ER, Chandran VR. Pharmacokinetics of morphine and its surrogates VI: bioanalysis, solvolysis kinetics, solubility, pK<sub>a</sub> values, and protein binding of buprenorphine. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1985 May; 74(5):515-24.
- Garrett ER, Chandran VR. Pharmacokinetics of morphine and its surrogates. IX: Discrepancies among infused buprenorphine plasma concentrations sampled from different veins. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1989 Aug; 78(8):644-7.
- Garrett ER, Chandran VR. Pharmacokinetics of morphine and its surrogates. X: analyses and pharmacokinetics of buprenorphine in dogs. *Biopharmaceutics & drug disposition*. 1990 May-Jun; 11(4):311-50.

- Gassel AD, Tobias KM, Egger CM, Rohrbach BW. Comparison of oral and subcutaneous administration of buprenorphine and meloxicam for preemptive analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy. *Journal of the american veterinary medical association*. 2005 Dec; 227(12):1937-1944.
- Gaynor JS. Other drugs used to treat pain. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 251-260.
- Gaynor JS, Khurshid RM. Local and Regional anesthetic techniques for alleviation of perioperative pain. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 261-280.
- Gaynor JS, Muir WW. Acute pain management. A case-based approach. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 346-380.
- Gopal S, Tzeng TB, Cowan A. Development and validation of a sensitive analytical method for the simultaneous determination of buprenorphine and norbuprenorphine in human plasma. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2001 Mar; 51(2):147-51.
- Gopal S, Tzeng TB, Cowan A. Characterization of the pharmacokinetics of buprenorphine and norbuprenorphine in rats after intravenous bolus administration of buprenorphine. *European journal of pharmaceutical sciences* 2002 Apr; 15(3):287-93.
- Gundersen R, Andersen R, Narverud G. Postoperative pain relief with high-dose epidural buprenorphine: a double-blind study. *Acta anaesthesiologica scandinavica*. 1986 Nov; 30(8):664-7.
- Hancock RB, Lanz OI, Waldron DR, Duncan RB, Broadstone RV, Hendrix PK. Comparison of postoperative pain after ovariohysterectomy by harmonic scalpel-assisted laparoscopy compared with median celiotomy and ligation in dogs. *Veterinary surgery*. 2005 May-Jun; 34 (3):273-282.
- Hand CW, Sear JW, Uppington J, Ball MJ, Mc Quay HJ, Moore RA. Buprenorphine disposition in patients with renal impairment: single and continuous dosing, with special reference to metabolites. *British journal of anaesthesia*. 1990 Mar; 64(3):276-82.
- Hansen BD. Through a glass darkly: using behaviour to assess pain. *Seminar in veterinary medicine and surgery (small animal)*. 1997 May; 12(2): 61-74.

- Hanson CE, Ruble GR, Essiet I, Hartman AB. Effects of buprenorphine on immunogenicity and protective efficacy in the guinea pig keratoconjunctivitis model (Sereny test). *Comparative medicine*. 2001 Jun; 51(3):224-9.
- Harcus AW, Ward AE, Smith DW. Methodology of monitored release of a new preparation: buprenorphine. *British medical journal*. 1979 Jul 21; 2(6183):163-5.
- Hardie EM, Hansen BD, Carroll GS (a). Physiological measurements after ovariohysterectomy in dogs: what's normal? *Applied animal behaviour science*. 1997; 51:101-109.
- Hardie EM, Hansen BD, Carroll GS (b). Behavior after ovariohysterectomy in the dog: what's normal? *Applied animal behaviour science*. 1997; 51:111-128.
- Heel RC, Brogden RN, Speight TM, Avery GS. Buprenorphine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1979 Feb; 17(2):81-110.
- Hellebrekers LJ. (a) Pathophysiology of pain in animals and its consequence for analgesic therapy. En: Hellebrekers LJ. *Animal pain. A practice-oriented approach to an effective pain control in animals*. ed. Van der Wees, 2000:71-83.
- Hellebrekers LJ. (b) Practical analgesic treatment in canine patients. En: Hellebrekers LJ. *Animal pain. A practice-oriented approach to an effective pain control in animals*. ed. Van der Wees, 2000:117-130.
- Hellyer PW. Objective, categorical methods for assessing pain and analgesia. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 82-110.
- Henderson G, Mc Knight A. The orphan opioid receptor and its endogenous ligand-nociceptin/orphanin FQ. *Trends in pharmacological sciences*. 1997 Aug; 18(8):293-300.
- Henke J, Erhardt W. ¿Por qué aliviar el dolor? En: Henke J, Erhardt W. *Control del dolor en pequeños animales y mascotas*. ed. Masson SA. 2004: 7-10.
- Hielm-Björkman AK, Kuusela E, Liman A, Markkola A, Saarto E, Huttunen P, Leppäluoto J, Tulamo RM, Raekallio M. Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *Journal of the american veterinary medical association*. 2003 Jun 1; 222(11):1552-8.
- Ho ST, Wang JJ, Ho W, Hu OY. Determination of buprenorphine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to human and rabbit pharmacokinetic studies. *Journal of chromatography*. 1991 Oct 4; 570(2):339-50.

- Hofmeister EH, Egger CM. Transdermal fentanyl patches in small animals. *Journal of the american animal hospital association*. 2004 Nov-Dec; 40(6):468-78.
- Holton L, Reid J, Scott EM, Pawson P, Nolan A. Development of a behaviour-based scale to measure acute pain in dogs. *The veterinary record*. 2001 Apr 28; 148(17):525-31.
- Holton LL, Scott EM, Nolan AM, Reid J, Welsh E, Flaherty D (a). Comparison of three methods used for assessment of pain in dogs. *Journal of the american veterinary medical association*. 1998 Jan 1; 212(1):61-6.
- Holton LL, Scott EM, Nolan AM, Reid J, Welsh E (b). Investigation of the relationship between physiological factors and clinical pain in dogs scored using a numerical rating scale. *Journal of small animal practice*. 1998 Oct; 39(10):469-74.
- Huang P, Kehner GB, Cowan A, Liu-Chen L. Comparison of pharmacological activities of buprenorphine and norbuprenorphine: norbuprenorphine is a potent opioid agonist. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2001 May; 297(2):688-95.
- Jacobson JD, Mc Grath CJ, Smith EP. Cardiorespiratory effects of four opioid-tranquilizer combinations in dogs. *Veterinary surgery*. 1994 Jul-Aug; 23(4):299-306. Erratum in: *Veterinary surgery*. 1994 Sep-Oct; 23(5):434.
- Johnson RE, Fudala PJ, Payne R. Buprenorphine: considerations for pain management. *Journal of pain and symptom management*. 2005 Mar; 29(3):297-326.
- Joubert, K. The use of analgesic drugs by South African veterinarians. *Journal of the south african veterinary association*. 2001 Mar; 72(1):57-60.
- Kalia YN, Guy RH. Modeling transdermal drug release. *Advance drug delivery reviews*. 2001 Jun 11; 48(2-3):159-72.
- Kobayashi K, Yamamoto T, Chiba K, Tani M, Shimada N, Ishizaki T, Kuroiwa Y. Human buprenorphine N-Dealkylation is catalyzed by cytochrome P450 3A4. *Drug metabolism and disposition*. 1998 Aug; 26(8):818-21.
- Kuhlman JJ Jr, Lalani S, Magluilo J Jr, Levine B, Darwin WD. Human pharmacokinetics of intravenous, sublingual, and buccal buprenorphine. *Journal of analytical toxicology*. 1996 Oct; 20(6):369-78.
- Kyles AE, Hardie EM, Hansen BD, Papich MG. Comparison of transdermal fentanyl and intramuscular oxymorphone on post-operative behaviour after ovariohysterectomy in dogs. *Research in veterinary science*. 1998 Nov-Dec; 65(3):245-51.

- Kyles AE, Papich M, Hardie EM. Disposition of transdermally administered fentanyl in dogs. *American journal of veterinary research*. 1996 May; 57(5):715-9.
- Lamont LA, Tranquilli WJ.  $\alpha$ 2-Agonists. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 199-220.
- Lamont LA, Tranquilli WJ, Grimm KA. Physiology of pain. *The veterinary clinics of north America. Small animal practice*. 2000 Jul; 30(4):703-28.
- Laredo FG, Belda E, Murciano J, Escobar M, Navarro A, Robinson KJ, Jones RS. Comparison of the analgesic effects of meloxicam and carprofen administered preoperatively to dogs undergoing orthopaedic surgery. *The veterinary record*. 2004 Nov 20; 55(21):667-71.
- Lascelles BD. Clinical pharmacology of analgesic agents. En: Hellebrekers LJ. *Animal pain. A practice-oriented approach to an effective pain control in animals*. ed Van der Wees, 2000:85-116.
- Lascelles BD, Cripps PJ, Jones A, Waterman-Pearson AE. Efficacy and kinetics of carprofen, administered preoperatively or postoperatively, for the prevention of pain in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Surgery*. 1998 Nov-Dec; 27:568-582.
- Lascelles BD, Robertson SA (a). Use of thermal threshold response to evaluate the antinociceptive effects of butorphanol in cats. *American journal of veterinary research*. 2004 Aug; 65(8):1085-9.
- Lascelles BD, Robertson SA (b). Antinociceptive effects of hydromorphone, butorphanol, or the combination in cats. *Journal of veterinary internal medicine*. 2004 Mar-Apr; 18(2):190-5.
- Leander JD. Buprenorphine is a potent kappa-opioid receptor antagonist in pigeons and mice. *European journal of pharmacology*. 1988 Jul 14; 151(3):457-61.
- Lee DD, Papich MG, Hardie EM. Comparison of pharmacokinetics of fentanyl after intravenous and transdermal administration in cats. *American journal of veterinary research*. 2000 Jun; 61(6):672-7.
- Likar R, Kayser H, Sittl R. Long-term management of chronic pain with transdermal buprenorphine: a multicenter, open-label, follow-up study in patients from three short-term clinical trials. *Clinical therapeutics*. 2006 Jun; 28(6):943-52.

- Lindhardt K, Ravn C, Gizurarson S, Bechgaard E. Intranasal absorption of buprenorphine--in vivo bioavailability study in sheep. *International journal of pharmaceutics*. 2000 Sep 15;205(1-2):159-63.
- Lizasoain I. La buprenorfina como agonista y antagonista en la drogadicción opiácea experimental. *Tesis Doctoral*. Editorial de la Universidad Complutense de Madrid. 1990.
- Lucas AN, Firth AM, Anderson GA, Vine JH, Edwards GA. Comparison of the effects of morphine administered by constant-rate intravenous infusion or intermittent intramuscular injection in dogs. *Journal of american veterinary medical association*. 2001 Mar; 218 (6):884-891.
- Lutfy K, Eitan S, Bryant CD, Yang YC, Saliminejad N, Walwyn W, Kieffer BL, Takeshima H, Carroll FI, Maidment NT, Evans CJ. Buprenorphine-induced antinociception is mediated by mu-opioid receptors and compromised by concomitant activation of opioid receptor-like receptors. *Journal of neuroscience*. 2003 Nov 12; 23(32):10331-7.
- Magnusson BM, Walters KA, Roberts MS. Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement. *Advanced drug delivery reviews*. 2001 Sep 1; 50(3):205-27.
- Malavasi LM, Augustsson H, Jensen-Waern M, Nyman G. The effect of transdermal delivery of fentanyl on activity in growing pigs. *Acta veterinaria scandinavica*. 2005; 46(3):149-57.
- Malavasi LM, Nyman G, Augustsson H, Jacobson M, Jensen-Waern M. Effects of epidural morphine and transdermal fentanyl analgesia on physiology and behaviour after abdominal surgery in pigs. *Laboratory Animals*. 2006 Jan; 40(1):16-27.
- Martin WR, Eades CG, Thompson JA, Huppler RE, Gilbert PE. The effects of morphine- and nalorphine- like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1976 Jun; 197(3):517-32.
- Martínez EA, Hartsfield SM, Melendez LD, Matthews NS, Slater MR. Cardiovascular effects of buprenorphine in anesthetized dogs. *American journal of veterinary research*. 1997 Nov; 58(11):1280-4.
- Martucci C, Panerai AE, Sacerdote P. Chronic fentanyl or buprenorphine infusion in the mouse: similar analgesic profile but different effects on immune responses. *Pain*. 2004 Jul; 110(1-2):385-92.

- Mastrocinque S, Fantoni DT. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative pain in canine ovariohysterectomy. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 2003 Oct; 30(4):220-8.
- Mathews KA. Pain assessment and general approach to management. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*. 2000 Jul; 30(4):729-55.
- Mathews KA, Pettifer G, Foster R, McDonnell W. Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs undergoing abdominal surgery. *American journal of veterinary research*. 2001 Jun; 62(6):882-8.
- Maxwell LK, Thomasy SM, Slovis N, Kollias-Baker C. Pharmacokinetics of fentanyl following intravenous and transdermal administration in horses. *Equine veterinary journal*. 2003 Jul; 35(5):484-90.
- Mc Kelvey D, Hollingshead KW. Analgesia. En: Mc Kelvey D, Hollingshead KW. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 3<sup>th</sup> Edition. ed. Mosby. 2003: 331-332.
- Meert TF, Vermeirsch HA. A preclinical comparison between different opioids: antinociceptive versus adverse effects. *Pharmacology biochemistry and behaviour*. 2005 Feb; 80: 309-326.
- Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Suaudeau C, Moisand C, Alvinerie P, Butour JL, Guillemot JC, Ferrara P, Monsarrat B, Mazarguil H, Vassart G, Parmentier M, Constantin J. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. *Nature*. 1995 Oct; 377: 532-535.
- Mills PC, Cross SE. Transdermal drug delivery: Basic principles for the veterinarian. *Veterinary journal*. 2006 Sep; 172(2):218-33.
- Mills PC, Magnusson BM, Cross SE. Investigation of in vitro transdermal absorption of fentanyl from patches placed on skin samples obtained from various anatomic regions of dogs. *American journal of veterinary research*. 2004 Dec; 65(12):1697-700.
- Mills PC, Magnusson BM, Cross SE. The effects of vehicle and region of application on in vitro penetration of testosterone through canine skin. *The veterinary journal*. 2006 Mar; 171(2):276-80.
- Möllenhoff A, Nolte I, Kramer S. Antinociceptive efficacy of carprofen, levomethadone and buprenorphine for pain relief in cats following major orthopaedic surgery. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*. 2005 May; 52(4):186-98.

- Monteiro-Riviere NA, Bristol DG, Manning TO, Rogers RA, Riviere JE. Interspecies and interregional analysis of the comparative histologic thickness and laser Doppler blood flow measurements at five cutaneous sites in nine species. *The journal of investigative dermatology*. 1990 Nov; 95(5):582-6.
- Monteiro-Riviere NA, Inman AO, Mak V, Wertz P, Riviere JE. Effect of selective lipid extraction from different body regions on epidermal barrier function. *Pharmaceutical research*. 2001 Jul; 18(7):992-8.
- Morton CM, Reid J, Scott EM, Holton LL, Nolan AM. Application of a scaling model to establish and validate an interval level pain scale for assessment of acute pain in dogs. *American journal of veterinary research*. 2005 Dec; 66(12):2154-66.
- Muir WW (a). Physiology and pathophysiology of pain. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 13-45.
- Muir WW (b). Pain and stress. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 46-59.
- Muir WW (c). Drugs used to treat pain. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 142-163.
- Muir WW, Woolf CJ. Mechanisms of pain and their therapeutic implications. *Journal of american veterinary medical association*. 2001 Nov 15; 219(10):1346-56.
- Murrell JC, Robertson SA, Taylor PM, McCown JL, Bloomfield M, Sear JW. Use of a transdermal matrix patch of buprenorphine in cats: preliminary pharmacokinetic and pharmacodynamic data. *The veterinary record*. 2007 Apr 28; 160(17):578-83.
- Nielsen S, Taylor DA. The effect of buprenorphine and benzodiazepines on respiration in the rat. *Drug and alcohol dependence*. 2005 Jul; 79(1):95-101.
- Nolan A, Livingston A, Waterman AE. Investigation of the antinociceptive activity of buprenorphine in sheep. *British journal of pharmacology*. 1987 Nov; 92(3):527-33.
- Ohtani M, Kotaki H, Nishitatenno K, Sawada Y, Iga T. Kinetics of respiratory depression in rats induced by buprenorphine and its metabolite, norbuprenorphine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1997 Apr; 281(1):428-33.

- Ohtani M, Kotaki H, Sawada Y, Iga T. Comparative analysis of buprenorphine- and nor-buprenorphine-induced analgesic effects based on pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1995 Feb; 272(2):505-10.
- Ohtani M, Kotaki H, Uchino K, Sawada Y, Iga T. Pharmacokinetic analysis of enterohepatic circulation of buprenorphine and its active metabolite, norbuprenorphine, in rats. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 1994 Jan-Feb; 22(1):2-7. (Abstract)
- Orsini JA, Moate PJ, Kuersten K, Soma LR, Boston RC. Pharmacokinetics of fentanyl delivered transdermally in healthy adult horses, variability among horses and its clinical implications. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2006 Dec; 29(6):539-46.
- Paddleford RR (a). Anesthetic Agents. En: Paddleford RR *Manual of small animal anesthesia*. 2<sup>nd</sup> Edition. ed. WB Saunders Company. 1999: 51-54.
- Paddleford RR. (b). Analgesia and pain management. En: Paddleford RR *Manual of small animal anesthesia*. 2<sup>nd</sup> Edition. ed. WB Saunders Company. 1999: 239-246.
- Papich MG. Pharmacologic considerations for opiate analgesic and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The veterinary clinics of north america. Small animal practice*. 2000 Jul; 30(4):815-37.
- Papich MG, Alcorn J. Absorption of diazepam after its rectal administration in dogs. *American journal of veterinary research*. 1995 Dec; 56(12):1629-1636.
- Pascoe PJ. Opioid analgesics. *The veterinary clinics of north america. Small animal practice*. 2000 Jul; 30(4):757-72.
- Pavletic MM. Skin and adnexa. En: Slatter D. *Textbook of small animal surgery*. W B Saunders Co. 2003: 260-268.
- Pettifer GR, Hosgood G. The effect of inhalant anesthetic and body temperature on peri-anesthetic serum concentrations of transdermally administered fentanyl in dogs. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 2004 Apr; 31(2):109-20.
- Polache A, Granero L. Absorción: estudio general. En: *Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II: Biofarmacia*. Editorial Síntesis, 1998: 77-94.
- Pontani RB, Vadlamani NL, Misra AL. Disposition in the rat of buprenorphine administered parenterally and as a subcutaneous implant. *Xenobiotica*. 1985 Apr; 15(4):287-97.

- Rance MJ, Shillingford JS. The role of the gut in the metabolism of strong analgesics. *Biochemical pharmacology*. 1976 Mar 15; 25(6):735-41.
- Real Academia de la Lengua. *Diccionario de la Lengua Española* [on line]. Disponible desde URL: [http:// www.rae.es](http://www.rae.es). [Acceso 2 Abril del 2006].
- Reisine T, Pasternak G. Analgésicos opioides y sus antagonistas. En: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff pB, Ruddon RW, Goodman A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol 1. 9ª edición*. ed. Mc Graw-Hill/Interamericana de España. 1996:557-599.
- Ricketts AP, Lundy KM, Seibel SB. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American journal of veterinary research*. 1998 Nov; 59(11):1441-6.
- Ritschel WA, Hussain AS. The principles of permeation of substances across the skin. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. 1988 Jan; 10(1):39-56.
- Riviere JE, Papich MG. Potencial and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Advanced drug delivery reviews*. 2001 Sep 1; 50(3):175-203.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. En: Rang HP, Dale MM. *Pharmacology*. 4<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone. 1999:229-247.
- Robertson SA, Lascelles BD, Taylor PM, Sear JW. PK-PD modeling of buprenorphine in cats: intravenous and oral transmucosal administration. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2005 Oct; 28(5):453-60.
- Robertson SA, Taylor PM, Sear JW. Systemic uptake of buprenorphine by cats after oral mucosal administration. *The veterinary record*. 2003; 152:675-78.
- Robinson TM, Kruse-Elliott KT, Markel MD, Pluhar GE, Massa K, Bjorling DE. A comparison of transdermal fentanyl versus epidural morphine for analgesia in dogs undergoing major orthopedic surgery. *Journal of the american animal hospital association*. 1999 Mar-Apr; 35(2):95-100.
- Roughan JV, Flecknell PA. Buprenorphine: a reappraisal of its antinociceptive effects and therapeutic use in alleviating post-operative pain in animals. *Laboratory animals*. 2002 Jul; 36(3):322-43.
- Sadée W, Rosenbaum JS, Herz A. Buprenorphine: differential

- interaction with opiate receptor subtypes in vivo. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1982 Oct; 223(1):157-62.
- Sanders EA, Hartsfield SM, Melendez LD, Mathews NS, Slater M. Cardiovascular effects of buprenorphine in isoflurane anesthetized dogs. *Veterinary surgery*. 1992; 21:163. (Abstract)
- Scherk-Nixon M. A study of the use of a transdermal fentanyl patch in cats. *Journal of the american animal hospital association*. 1996 Jan-Feb; 32(1):19-24.
- Scott DW, Miller WH, Griffin GE. Structure and function of the skin. En: Scott DW, Miller WH, Griffin GE. *Muller & Kirk's. Small animal dermatology*. 6<sup>th</sup> Edition. WB Saunders Company. 2001:1-70.
- Sellon DC, Monroe VL, Roberts MC, Papich MG. Pharmacokinetics and adverse effects of butorphanol administered by single intravenous injection or continuous intravenous infusion in horses. *American journal of veterinary research*. 2001 Feb; 62(2):183-9.
- Serna J, Vitales M, López MC, Molina A. Dermatología [on line]. Disponible desde URL: [http://sefh.interguias.com/libros/tom02/Tomo2\\_Cap4.pdf](http://sefh.interguias.com/libros/tom02/Tomo2_Cap4.pdf) [Acceso 15 Febrero del 2006].
- Serrano-Atero MS, Caballero J, Cañas A, García-Saura PL, Serrano-Álvarez C, Prieto J. (a). Valoración del dolor (I). *Revista de la sociedad española del dolor*. 2002 Feb; 9 (2):94-108.
- Shih AC, Robertson S, Isaza N, Pablo L, Davies W. Comparison between analgesic effects of buprenorphine, carprofen, and buprenorphine with carprofen for canine ovariohysterectomy. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 2007. (In press)
- Short CE, Bufalari A. Propofol anesthesia. *The veterinary clinics of north america. Small animal practice*. 1999 May; 29(3):747-78.
- Skarda RT. Complementary and alternative (integrative) pain therapy. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 281-326.
- Slingsby LS, Taylor PM, Waterman-Pearson AE. Effects of two doses of buprenorphine four or six hours apart on nociceptive thresholds, pain and sedation in dogs after castration. *The veterinary record*. 2006 Nov 18; 159(21):705-11.

- Slingsby LS, Waterman-Pearson AE. Comparison of pethidine, buprenorphine and ketoprofen for postoperative analgesia after ovariohysterectomy in the cat. *Veterinary record*. 1998 Aug 15; 143(7):185-9.
- Stanway GW, Taylor PM, Brodbelt DC. A preliminary investigation comparing pre-operative morphine and buprenorphine for postoperative analgesia and sedation in cats. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 2002 Jan; 29:29-35.
- Steagall PV, Carnicelli P, Taylor PM, Luna SP, Dixon M, Ferreira TH. Effects of subcutaneous methadone, morphine, buprenorphine or saline on thermal and pressure thresholds in cats. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2006 Dec; 29(6):531-7.
- Steagall PV, Taylor PM, Brondani JT, Luna SPL, Dixon MJ, Ferreira TH. Effects of buprenorphine, carprofen and saline on thermal and mechanical nociceptive thresholds in cats. *Veterinary anaesthesia and analgesia*. 2007; Sep; 34(5):344-350.
- Stinchcomb AL, Paliwal A, Dua R, Imoto H, Woodard RW, Flynn G. Permeation of buprenorphine and its 3-alkyl-ester prodrugs through human skin. *Pharmaceutical research*. 1996 Oct; 13(10):1519-23.
- Szoke MO, Blais D, Cuvelliez SG, Lavoie JP. Effects of buprenorphine on cardiovascular and pulmonary function in clinically normal horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of veterinary research*. 1998 Oct; 59(10):1287-91.
- Taylor PM. Newer analgesics. Nonsteroid anti-inflammatory drugs, opioids, and combinations. *The veterinary clinics of north america. Small animal practice*. 1999 May; 29(3):719-35.
- Taylor PM, Robertson SA, Dixon MJ, Ruprah M, Sear JW, Lascelles BD, Waters C, Bloomfield M. Morphine, pethidine and buprenorphine disposition in the cat. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2001 Dec; 24(6):391-8.
- Taylor PM, Steagall PV, Dixon MJ, Ferreira TH, Luna SP. Carprofen and buprenorphine prevent hyperalgesia in a model of inflammatory pain in cats. *Research in veterinary science*. 2007 Dec; 83(3):369-75. Epub 2007 Mar 23.
- Terlinder R, Stadler T. Pharmacokinetic study on single application of the buprenorphine transdermal system (TDS). Grunenthal GmbH. 2000 (a).

- Terlinder R, Stadler T. Pharmacokinetic study on multiple application of the buprenorphine transdermal system (TDS). Grunenthal GmbH. 2000 (b).
- Thomasy SM, Slovis N, Maxwell LK, Kollias-Backer C. Transdermal fentanyl combined with nonsteroidal anti-inflammatory drugs for analgesia in horses. *Journal of veterinary internal medicine*. 2004; 18:550-54.
- Torres F, Peris JE. Administración parenteral. En: Doménech J, Martínez J, Plá JM. *Biofarmacia y farmacocinética. Volumen II: Biofarmacia*. ed. Sintesis. 2001:95-11.
- Tyers MB. A classification of opiate receptors that mediate antinociception in animals. *British journal of pharmacology*. 1980 Jul; 69(3):503-12.
- Umehara K, Shimokawa Y, Miyamoto G. Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 by buprenorphine. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2002 May; 25(5):682-5.
- Van Loveren H, Gianotten N, Hendriksen CF, Schuurman HJ, Van der Laan JW. Assessment of immunotoxicity of buprenorphine. *Laboratory animals*. 1994 Oct; 28(4):355-63.
- Villiger JW, Taylor KM. Buprenorphine: characteristics of binding sites in the rat central nervous system. *Life sciences*. 1981 Dec 28; 29(26):2699-708.
- Wagner AE. Opioids. En: Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of veterinary pain management*. ed. Mosby, Inc. 2002: 164-183.
- Wagner AE, Walton JA, Hellyer W, Gaynor JS, Mama KR. Use of low doses of ketamine administered by constant rate infusion as an adjunct for postoperative analgesia in dogs. *Journal of american veterinary medical association*. 2002 Jul; 221(1):72-75.
- Watson AP, Nicholson A, Church DB, Pearson MR. Use of anti-inflammatory and analgesic drugs in dogs and cats. *Australian veterinary journal*. 1996 Sep; 74(3):203-10.
- Wegner K, Robertson SA, Kollias-Baker C, Sams RA, Muir WW. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of intravenous hydromorphone in cats. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2004 Oct; 27(5):329-36.
- Welch JA, Wohol JS, Wright JC. Evaluation of postoperative respiratory function by serial blood gas analysis in dogs treated with transdermal fentanyl. *Journal of veterinary emergency and critical Care*. 2002 Jun 12(2):81-87.

- Welsh EM, Gettinby G, Nolan AM. Comparison of a visual analogue scale and a numerical rating scale for assessment of lameness, using sheep as a model. *American journal of veterinary research*. 1993 Jun; 54(6):976-83.
- Wester RC, Noonan PK, Smeach S, Kosobud L. Pharmacokinetics and bioavailability of intravenous and topical nitroglycerin in the rhesus monkey: estimate of percutaneous first-pass metabolism. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1983 Jul; 72(7):745-8. (Abstract).
- Wilkinson AC, Thomas III MV, Morse BC. Evaluation of transdermal fentanyl system in Yucatan miniature pigs. *Contemporary topics*. 2001 May; 40(3):12-16.
- Wilkosz MF, Bogner RH. Transdermal drug delivery. Part 1: Current Status. En: Welcom to US Pharmacist [on line] Disponible desde URL: [http://www.uspharmacist.com/index.asp?show=article&page=8\\_1061.htm](http://www.uspharmacist.com/index.asp?show=article&page=8_1061.htm) [Acceso el 3 de Septiembre del 2007].
- Yassen A, Kan J, Olofsen E, Suidgeest E, Dahan A, Danhof M. (a) Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the respiratory depressant effect of buprenorphine and fentanyl in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2006 Nov; 319(2):682-92.
- Yassen A, Olofsen E, Dahan A, Danhof M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of buprenorphine and fentanyl in rats: role of receptor equilibration kinetics. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2005 Jun; 313(3):1136-49.
- Yassen A, Olofsen E, Romberg R, Sarton E, Danhof M, Dahan A. (b) Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of buprenorphine in healthy volunteers. *Anesthesiology*. 2006 Jun; 104(6):1232-42.
- Yu S, Zhang X, Sun Y, Peng Y, Johnson J, Mandrell T, Shukla AJ, Laizure SC. Pharmacokinetics of buprenorphine after intravenous administration in the mouse. *Journal of the american association for laboratory animal science*. 2006 May; 45(3):12-6.
- Zaki PA, Keith DE Jr, Brine GA, Carroll FI, Evans CJ. Ligand-induced changes in surface mu-opioid receptor number: relationship to G protein activation? *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2000 Mar; 292(3):1127-34.



Departament de Medicina i Cirurgia Animals  
Facultat de Veterinària  
Universitat Autònoma de Barcelona