

# Evaluación del metabolismo oxidativo microsómico hepático en ratas tratadas con vinorelbina mediante la eliminación de antipirina

P. Montenegro-Álvarez<sup>a</sup>, M. González-Alfonso<sup>a</sup>, M.H. Cantarino-Aragón<sup>b</sup>, C. Gutiérrez-Ortega<sup>c</sup> y F.J. Guijarro-Escribano<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Farmacia. Hospital Militar Central Gómez-Ulla. Madrid. España.

<sup>b</sup>Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

<sup>c</sup>Servicio de Medicina Preventiva. Hospital Militar Central Gómez-Ulla. Madrid. España.

<sup>d</sup>Servicio de Cirugía Vascular. Hospital Militar Central Gómez-Ulla. Madrid. España.

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** Conocer la eficacia metabólica del hígado de pacientes en tratamiento con fármacos altamente tóxicos es de gran importancia clínica.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** En el presente trabajo se ha evaluado el efecto, en ratas, de la administración de vinorelbina sobre la eficacia metabólica del hígado mediante los parámetros farmacocinéticos de la fenazona. Asimismo se han comparado con pruebas habitualmente utilizadas cuando se sospecha una disfunción hepática.

**RESULTADOS:** Tras la administración de vinorelbina en ratas los parámetros farmacocinéticos de antipirina cambiaron significativamente al compararlos con los de ratas control. En las tratadas con vinorelbina se produjo una prolongación de la vida media de la antipirina, así como una disminución de la constante de eliminación y del aclaramiento, cambios que fueron estadísticamente significativos ( $p < 0,01$ ). Al mismo tiempo, se hallaron relaciones estadísticamente significativas entre la vida media de la antipirina y las concentraciones de albúmina sérica ( $p < 0,01$ ), al igual que con el tiempo de protrombina ( $p < 0,001$ ).

**CONCLUSIÓN:** La prueba de antipirina permite la detección temprana de disfunción oxidativa, producida por vinorelbina, con una escala sensitiva.

**METHODS:** The effect of vinorelbine on the metabolic efficiency of the liver was evaluated by means of phenazone kinetics in rats. The test was compared with a battery of tests routinely used whenever hepatic dysfunction is suspected.

**RESULTS:** Vinorelbine was administered to the rats and the pharmacokinetic parameters of antipyrine were compared with those in control rats. A statistically significant prolongation of the elimination half-life, as well as a decrease in the elimination constant and clearance of antipyrine were found in the rats receiving the anticancer drug in comparison with controls ( $p < 0.01$ ). Statistically significant correlations were found between the elimination half-life of antipyrine and serum albumin values ( $p < 0.01$ ) and prothrombin time ( $p < 0.001$ ).

**CONCLUSIONS:** Determination of antipyrine pharmacokinetics allows early detection of vinorelbine-induced hepatic dysfunction, with a sensitive scale.

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la eficacia metabólica del hígado en pacientes con procesos neoplásicos sometidos a tratamientos con fármacos altamente tóxicos, así como en pacientes con enfermedades no oncológicas pero tratados con citostáticos, es de gran importancia práctica.

El uso de la vinorelbina, un alcaloide semisintético de la vinca (*Vinca rosae*), se ha extendido rápidamente para el tratamiento del linfoma maligno, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico<sup>1-3</sup>. Este fármaco muestra neurotoxicidad reducida en comparación con otros alcaloides de la vinca y la toxicidad que limita su dosis parece ser la neutropenia<sup>4,5</sup>. Como los otros alcaloides de la vinca, se elimina a través del metabolismo hepático y por excreción biliar<sup>6,7</sup>. Parece que la isoenzima del sistema hepático P-450 más activa en el ser humano es la CYP3A4<sup>8,9</sup>. En las instrucciones de administración contenidas en la ficha técnica del fármaco y en diversas publicaciones<sup>10,11</sup> se recomienda la reducción de la dosis en los pacientes con disfunción hepática.

## MICROSOMAL OXIDATIVE METABOLISM IN THE LIVER OF RATS TREATED WITH VINOIRELBINE: EVALUATION THROUGH ANTIPYRINE ELIMINATION

**BACKGROUND:** Determination of the metabolic efficiency of the liver in neoplastic diseases in patients receiving highly toxic drugs is of great practical importance.

Correspondencia: Dra. P. Montenegro-Álvarez.  
Servicio de Farmacia. Hospital Militar Central Gómez-Ulla.  
Glorieta del Ejército, s/n. 28047 Madrid. España.  
Correo electrónico: pimontenegro@terra.es

Recibido el 26-4-2005; aceptado para su publicación el 5-10-2005.

De todos los fármacos empleados en la valoración de la capacidad metabólica oxidativa hepática, el más utilizado es la antipirina, y es la prueba de referencia<sup>12-16</sup> en la búsqueda de relaciones tanto entre sus parámetros farmacocinéticos y los datos bioquímicos como con hallazgos histológicos en las biopsias, observaciones clínicas o supervivencias en distintas hepatopatías: cirrosis<sup>17-19</sup>, hígado graso<sup>20</sup>, disfunción hepática inducida por la administración de fármacos<sup>14,21-23</sup>, anestesiología<sup>24</sup>, pediatría<sup>25,26</sup>, entre otros.

La antipirina o fenazona es un derivado pirazolónico utilizado desde hace unos 100 años como antipirético, antiinflamatorio y analgésico. En Occidente no se utiliza desde hace años, puesto que con otros compuestos del grupo (aminopirina, dipirona) produce agranulocitosis, pero aún se emplea en el tercer mundo. En los países occidentales se utiliza como test de función hepática. Se ha establecido que en el ser humano es metabolizada por al menos 6 isoenzimas del sistema P-450: CYP1A2, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4<sup>27</sup>, y en ratas Wistar por CYP1A2, CYP2C, CYP3A3 y CYP3A4<sup>28</sup>. En esta especie la cinética de eliminación de la antipirina refleja ampliamente el grado de oxidación; por lo tanto la fenazona es básica como modelo en el estudio de los factores que influyen en la oxidación de fármacos *in vivo*.

Por todo lo expuesto anteriormente, el objetivo de nuestro estudio ha sido la evaluación del efecto de la vinorelbina sobre la farmacocinética de la antipirina en ratas, e intentar relacionar los datos indicativos de la capacidad de síntesis proteica, destrucción de los hepatocitos y de la función metabolizadora con los parámetros farmacocinéticos de la antipirina como marcador hepático.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales y tratamiento

Se ha dispuesto de un total de 36 ratas de la especie *Rattus norvegicus*, variedad albina, raza Wistar. Todos los animales, tanto controles como experimentales, tenían un peso inicial promedio ( $\pm$  desviación estándar) de  $203,34 \pm 31,46$  g (intervalo de confianza del 95%, 172,51-234,17) y entre 8 y 10 semanas de edad. Se les suministró agua y comida *ad libitum*. Su acondicionamiento se realizó según las normas habituales para roedores (temperatura de 22 a 24 °C y fotoperíodo de 12 h). Se distribuyeron las ratas en 4 series, según el tiempo (en semanas) de tratamiento ya sea con CINa o con vincrelbina: a las ratas de la serie control de una semana se les administraron 100  $\mu$ l de CINa al 0,9% por vía intravenosa, en la semana siguiente se les realizó el estudio farmacocinético con la administración intravenosa de antipirina (10 mg/kg) y se recogieron muestras de sangre a las 0,5, 1, 2, 3 y 5 h, y al finalizar este estudio se efectuaron las determinaciones bioquímicas; a las ratas control de 2 semanas se les administró una dosis de 100  $\mu$ l de CINa al 0,9% cada semana; las ratas tratadas con uno y 2 ciclos recibieron, en vez de CINa, vinorelbina por vía intravenosa (30 mg/m<sup>2</sup>). El estudio farmacocinético se realizó siempre al finalizar el tratamiento, ya fuera de 1 o de 2 ciclos.

### Técnicas analíticas

Para las determinaciones bioquímicas séricas se utilizó un autoanalizador de bioquímica sérica Technicon DAX 2000®. Para medir la actividad de protrombina se utilizó un equipo compuesto por un FP 401 Incubator® y un FP 910 Coagulation Analyzer LabSystems®. La determinación de antipirina y fenacetina (utilizada como referencia interna) en suero se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución. La columna utilizada fue una LiChrospher 100 RP-18 (5  $\mu$ m)

LiChroCART 250-4, que utiliza como fase móvil una mezcla que contiene un 45% de metanol y un 55% (v/v) de un tampón fosfato de 67 mM a pH de 7. Esta fase se hace pasar por una bomba de cromatografía a un flujo constante de 0,8 ml/min hasta alcanzar presiones de 3.000 psi. La inyección de la muestra en el sistema es de un volumen de 50  $\mu$ l y la lectura se realiza a una longitud de onda de 254 nm. El tiempo de retención es de 6,10 min para la antipirina y de 10 min para la fenacetina. Se emplea un método de extracción conocido<sup>29</sup>, con ligeras modificaciones. A 100  $\mu$ l de suero se le añaden 50  $\mu$ l de fenacetina (20  $\mu$ g/ml), 100  $\mu$ l de NaOH 1 N y 8 ml de diclorometano. Se agita y centrifuga. Se recoge la fase orgánica y se evapora bajo corriente de nitrógeno a sequedad. Se reconstituye con 200  $\mu$ l de fase móvil inyectando 50  $\mu$ l.

### Cálculos farmacocinéticos

El cálculo de los parámetros farmacocinéticos de antipirina se realizó según un modelo monocompartmental con administración intravenosa. Se calcularon los siguientes parámetros:

1. Constante de eliminación ( $K_{el}$ ): la pendiente de la recta que se obtiene por medio del ajuste por mínimos cuadrados de los puntos obtenidos al representar el logaritmo de la concentración frente al tiempo.
2. El área bajo la curva desde tiempo cero hasta infinito se estima por integración trapezoidal:  $(AUC)_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/K_{el}$ ; donde  $C_t$  de la última concentración de antipirina.
3. Vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) =  $0,693/K_{el}$ <sup>18,30</sup>.
4. Volumen aparente de distribución ( $V_d$ ) =  $Cl/K_{el}$ .
5. Aclaramiento plasmático ( $Cl$ ) =  $D/AUC$ , donde  $D$  es la dosis administrada y el AUC se calcula mediante el método trapezoidal con extrapolación al infinito.

### Análisis estadístico

Los valores de la muestra o de las características de la muestra se describen mediante la media ( $\pm$  desviación estándar) y se extrapolan a la población general mediante el intervalo de confianza del 95%. Se comprobó el supuesto de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilks. Se verificó la homogeneidad de variancias entre los resultados de cada distribución mediante el test de Levene. El cálculo de la significación estadística entre la media de los 2 grupos controles y los 2 tratados, tanto para un ciclo como para 2, se realizó mediante las pruebas de la t de Student-Fisher y U de Mann-Whitney.

La relación entre las distintas pruebas bioquímicas de función hepática y los parámetros farmacocinéticos de antipirina se efectuó mediante el coeficiente de correlación de Pearson y el coeficiente de correlación de Spearman. En todos los casos se aceptó como significativo un valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Como se puede observar en la tabla I, la administración de vinorelbina en 1 y 2 ciclos no cambió la actividad de la creatinfosfocinasa, aspartatoaminotransferasa y lactato-deshidrogenasa. Igualmente los valores medios de fosfatasa alcalina en las ratas control, tanto de un ciclo como de 2 ciclos, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos. En cambio aumentó de forma estadísticamente significativa en las ratas tratadas con respecto a las controles ( $p < 0,05$  en un ciclo;  $p < 0,01$  en 2 ciclos). Por su parte, la gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) no cambió en las ratas tratadas con un ciclo de vinorelbina, pero aumentó significativamente ( $p < 0,01$ ) en las tratadas con 2 ciclos.

No se encontraron diferencias significativas respecto a la alaninaaminotransferasa (ALT) entre controles y ratas tratadas con un ciclo de vinorelbina; sin embargo, hubo diferencias significativas entre las ratas tratadas con 2 ciclos de vinorelbina y sus controles ( $p < 0,05$ ).

En la tabla I se observa que en los valores medios de albúmina las diferencias entre las ratas tratadas con 2 ciclos

TABLA I. Actividad enzimática, sustratos metabólicos y tiempo de protrombina

	Control 1 ciclo	1 ciclo	Control 2 ciclos	2 ciclos
Fosfatasa alcalina (U/l)	183,3 ± 13,9	186 ± 41,8	183,6 ± 14,13	190 ± 30,6
GGT (U/l)	1,66 ± 0,8	2 ± 1	1,83 ± 0,75	4,3 ± 1,49 <sup>b</sup>
AST(U/l)	141 ± 28	159,7 ± 38,8	177 ± 43,5	170,5 ± 42,2
ALT (U/l)	63,16 ± 15,9	64,5 ± 12,2	57,8 ± 9,8	72,00 ± 6,7 <sup>a</sup>
LDH (U/l)	652,6 ± 60,96	626 ± 42,1	662 ± 21,6	648,7 ± 58,6
FA (U/l)	160 ± 59,48	238,7 ± 77,8 <sup>a</sup>	155,1 ± 44,2	271,1 ± 67,9 <sup>b</sup>
Albumina (g/dl)	3,4 ± 0,28	3,0 ± 0,54	3,26 ± 0,27	2,18 ± 0,4 <sup>b</sup>
Bilirrubina total (mg/dl)	0,31 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,36 ± 0,05	0,31 ± 0,04
Creatinina sérica (mg/dl)	0,45 ± 0,05	0,47 ± 0,06	0,45 ± 0,05	0,47 ± 0,09
Glucosa (mg/dl)	174,5 ± 18	164,7 ± 33,5	132 ± 23,7	166,9 ± 32,5
Colesterol (mg/dl)	44,16 ± 4,4	43,9 ± 7	41,83 ± 6,8	42,8 ± 8,08
Triglicéridos (mg/dl)	30,3 ± 8,6	35 ± 9,67	32,16 ± 9,3	58,7 ± 13,5 <sup>b</sup>
Tiempo de protrombina (s)	14,83 ± 1,13	24,71 ± 6,27 <sup>c</sup>	14,08 ± 0,91	17,73 ± 3,08 <sup>a</sup>

GGT: gamma-glutamyltranspeptidasa; AST: aspartatoaminotransferasa; ALT: alaninaaminotransferasa; LDH: lactatodeshidrogenasa; FA: fosfatasa alcalina.

<sup>a</sup>p < 0,05.

<sup>b</sup>p < 0,01.

<sup>c</sup>p < 0,001.

TABLA II. Parámetros farmacocinéticos de antipirina

	Vida media (h)	Aclaramiento (l/min/kg)	V <sub>d</sub> (l/kg)	K <sub>el</sub> (min <sup>-1</sup> )
Control 1 ciclo	2,5 ± 0,7	5,4 · 10 <sup>-3</sup> ± (2,6-10 <sup>-3</sup> )	0,99 ± 0,18	5,3 · 10 <sup>-3</sup> ± (2,4 × 10 <sup>-3</sup> )
1 ciclo	5,09 ± 1,3 <sup>b</sup>	2,2 · 10 <sup>-3</sup> ± (10 <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>	1,04 ± 0,15	2,4 · 10 <sup>-3</sup> ± (6 × 10 <sup>-4</sup> ) <sup>b</sup>
Control 2 ciclos	2,52 ± 0,48	4,6 · 10 <sup>-3</sup> ± (10 <sup>-3</sup> )	0,96 ± 0,11	4,7 · 10 <sup>-3</sup> ± (9 × 10 <sup>-4</sup> )
2 ciclos	10,17 ± 3,98 <sup>b</sup>	1,4 · 10 <sup>-3</sup> ± (5 · 10 <sup>-4</sup> ) <sup>b</sup>	1,03 ± 0,13	1,3 · 10 <sup>-3</sup> ± (5 × 10 <sup>-4</sup> ) <sup>b</sup>

V<sub>d</sub>: volumen de distribución; K<sub>el</sub>: constante de eliminación.

<sup>a</sup>p < 0,01.

<sup>b</sup>p < 0,001.

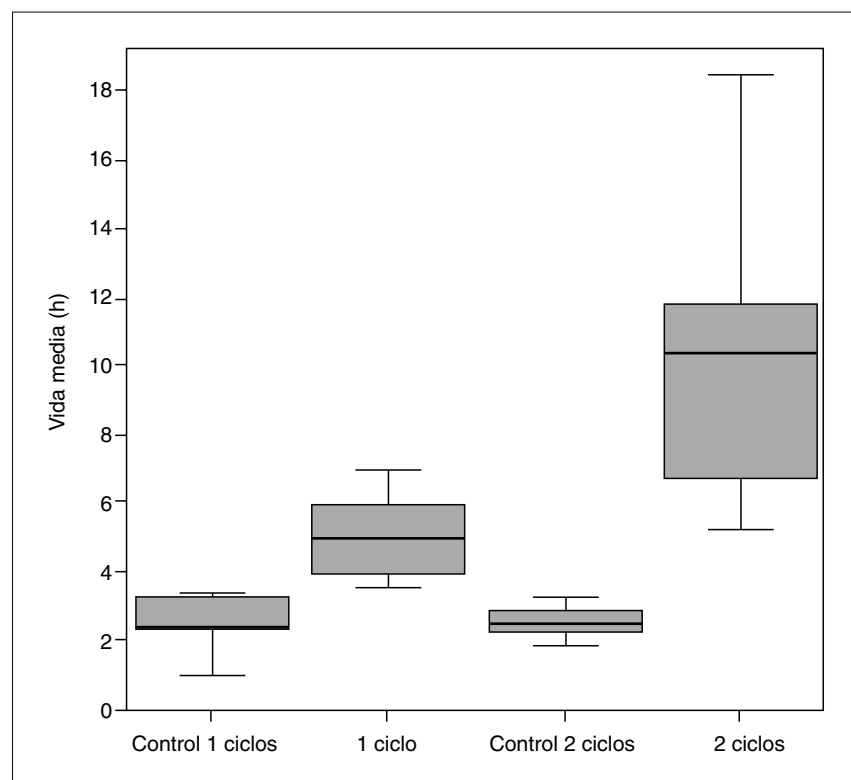


Fig. 1. Vida media de la antipirina.

y sus controles fueron muy significativas ( $p < 0,01$ ). También hubo diferencias significativas con respecto a las concentraciones séricas de triglicéridos entre el grupo tratado con 2 ciclos de vinorelbina y sus controles ( $p < 0,01$ ).

Por lo que se refiere a la actividad de protrombina (tabla I), al final del tratamiento con un ciclo de vinorelbina se halló significativamente disminuida ( $p < 0,001$ ). Igual sucedió en las ratas tratadas con 2 ciclos de vinorelbina ( $p < 0,05$ ).

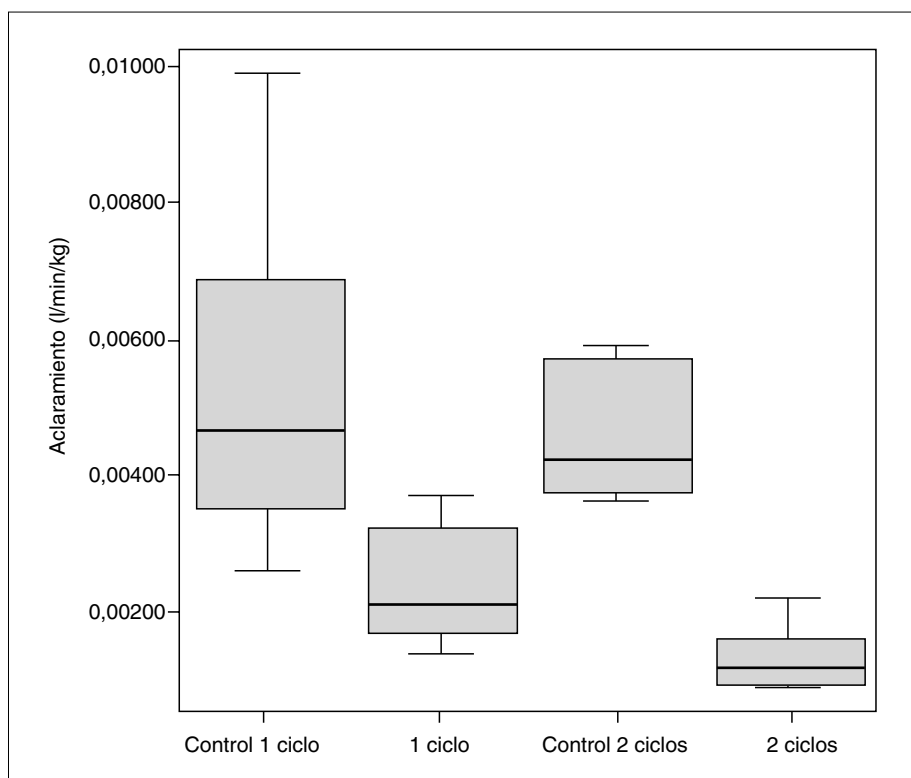


Fig. 2. Aclaramiento plasmático de antipirina.

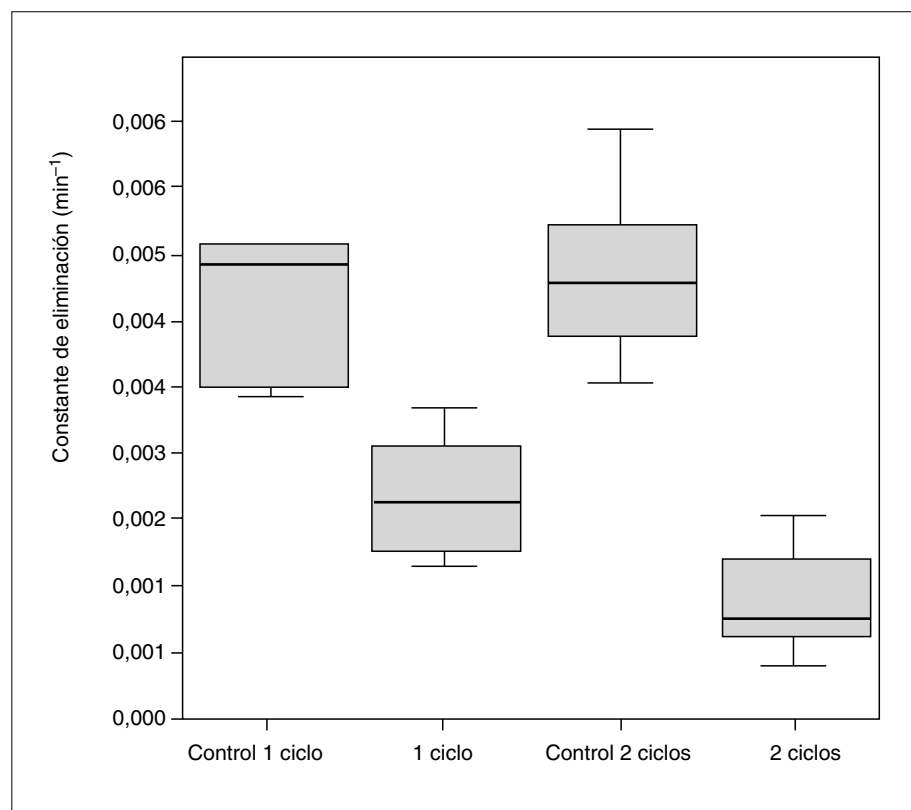


Fig. 3. Constante de eliminación de antipirina.

Por otro lado, la cinética de la antipirina varió significativamente después de la administración de vinorelbina. En la tabla II se recogen los datos farmacocinéticos obteni-

dos. Las comparaciones entre los distintos grupos en cuanto a la vida media de la antipirina, su aclaramiento y su constante de eliminación pueden verse en las figuras 1-3.

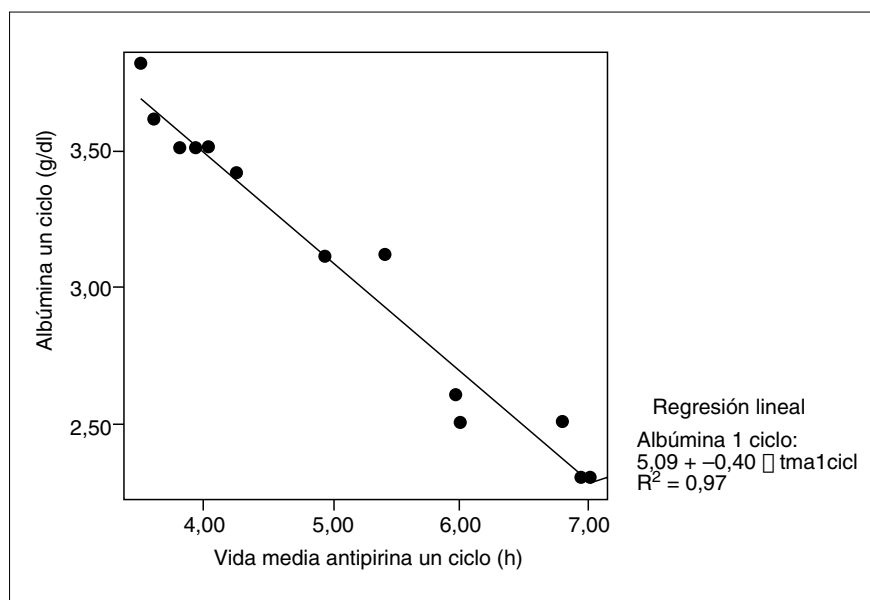


Fig. 4. Correlación entre la vida media de la antipirina y albúmina en un ciclo (correlación de Pearson =  $-0,98$ ;  $p < 0,01$ ). *tma1cicl*: vida media de antipirina un ciclo.

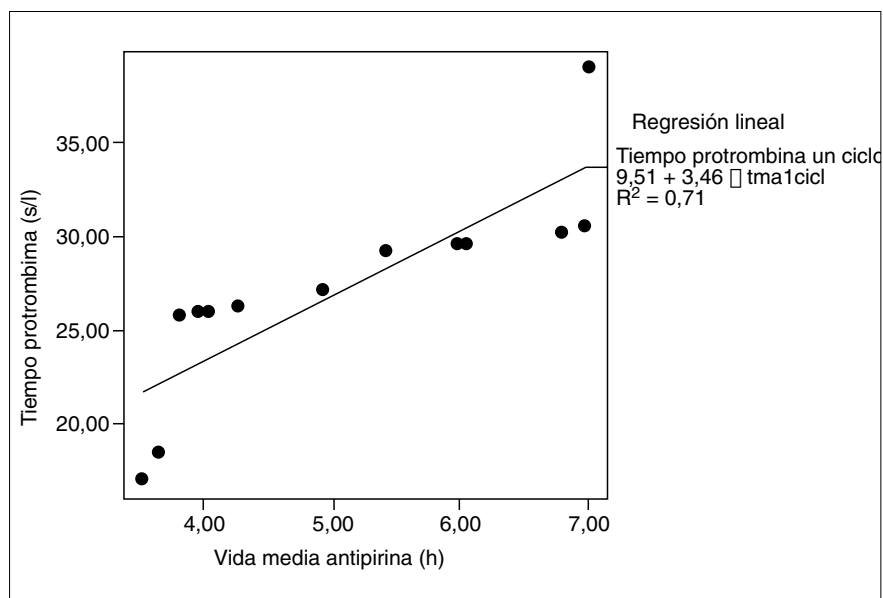


Fig. 5. Correlación entre la vida media de la antipirina y el tiempo de protrombina en un ciclo (correlación de Pearson =  $0,84$ ;  $p < 0,01$ ). *tma1cicl*: vida media de antipirina un ciclo.

Se halló una correlación estadísticamente significativa entre la vida media de la antipirina y la tasa sérica de albúmina, pero sólo en el grupo de ratas tratadas (coeficiente de correlación de Pearson =  $-0,98$ ;  $p < 0,01$ ) (fig. 4). Asimismo se observó una buena correlación entre el aumento de la vida media de la antipirina y el aumento del tiempo de protrombina en todas las ratas tratadas con vinorelbina, tanto en las de un ciclo (fig. 5) como en las de 2 (fig. 6).

## DISCUSIÓN

El aumento significativo de la fosfatasa alcalina en las ratas tratadas tanto con un ciclo como con 2 no llegó a triplicar el valor normal en ambos casos, lo que coincide con lo comunicado por otros autores<sup>31,32</sup>. Una variación

de estas características (en las que los valores de la fosfatasa alcalina no superan 3 veces los valores normales) se puede producir en otras enfermedades sin afectación hepática<sup>8</sup>.

En cuanto a la GGT y ALT, únicamente se vieron alteradas en las ratas tratadas con 2 ciclos. En el caso de la GGT indicaría un compromiso hepático moderado, ya que el aumento es igual al observado en enfermos con cáncer de mama y metástasis hepáticas, y en otro grupo con enfermedad extrahepática, ambos tratados con vinorelbina<sup>8</sup>. El grado de significación de las diferencias con respecto a la ALT fue pequeño, lo que podría indicar una incipiente lesión hepática, como se señala en otros estudios<sup>33,34</sup>.

Con respecto a los valores medios de albúmina, las diferencias muy significativas entre las ratas tratadas con 2

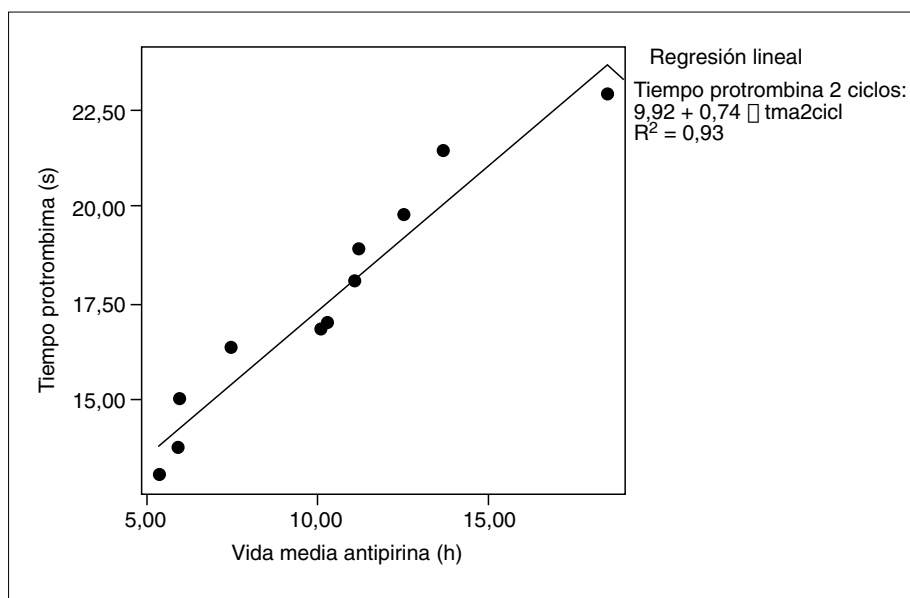


Fig. 6. Correlación entre la vida media de la antipirina y el tiempo de protrombina en 2 ciclos (correlación de Pearson =  $-0,96$ ;  $p < 0,01$ ). tma2cicl: vida media de antipirina 2 ciclos.

ciclos y sus controles indican una disfunción hepática al final del tratamiento. En cambio, en procesos cirróticos provocados por el empleo de hepatotoxinas la hipoalbuminemia se observa desde el inicio del tratamiento y se mantiene hasta el final<sup>35</sup>.

La elevación de triglicéridos en el grupo tratado con 2 ciclos de vinorelbina coincide con lo comunicado por Dianzani<sup>36</sup>, quien describe estas acumulaciones observadas en esteatosis.

La disminución del tiempo en que la protrombina pasó a trombina en los 2 grupos tratados puede deberse a una síntesis inadecuada de los factores de coagulación por insuficiencia hepática. Estos resultados coinciden con los descritos por Eguchi et al<sup>37</sup> en un estudio sobre trasplantes de hepatocitos aislados en ratas con insuficiencia hepática fulminante.

El tratamiento con vinorelbina mostró una acentuada disminución de la eliminación plasmática de antipirina. Tras el tratamiento con vinorelbina el aclaramiento de antipirina disminuyó en un 59,26% en las ratas con un ciclo de vinorelbina y en un 74,08% en las tratadas con 2 ciclos. En nuestro estudio la vida media de la antipirina aumentó de forma muy significativa en las ratas tratadas con respecto a sus controles, al igual que en otros estudios en ratas tratadas con vincristina, análoga de la vinorelbina<sup>22</sup>, y con 5-fluorouracilo y ciclofosfamida<sup>38</sup>. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por otros autores en estudios con diversas sustancias de características fisiológicas semejantes<sup>39,40</sup>. Incluso se pueden comparar con los descritos por Zhu et al<sup>30</sup> en ratas a las que se indujo una grave intoxicación hepática por tetracloruro de carbono.

La relación estadísticamente significativa entre la cinética de eliminación de la antipirina, la tasa sérica de albúmina en las ratas tratadas con un ciclo y el aumento del tiempo de protrombina en los 2 grupos de ratas tratadas, que también se ha encontrado en pacientes con hepatopatías crónicas y cirrosis<sup>41,42</sup>, refleja la estrecha relación entre la

eliminación de antipirina y los datos bioquímicos indicativos de la capacidad de síntesis hepática. No obstante, dicha disminución de la síntesis hepática en el caso de la albúmina sólo fue significativa en las ratas tratadas con 2 ciclos; en cuanto al tiempo de protrombina, hubo relaciones con la cinética de la antipirina en las ratas tratadas tanto con uno como con 2 ciclos, pero las diferencias más significativas ( $p < 0,001$ ) se dieron entre las ratas de un ciclo y sus controles. En las tratadas con 2 ciclos las diferencias fueron menores ( $p < 0,05$ ). Al estudiar la cinética de eliminación de la antipirina vimos que las diferencias eran claramente significativas en las ratas tratadas con un ciclo y esas diferencias se mantuvieron e incluso aumentaron en las ratas tratadas con 2 ciclos.

Las pruebas bioquímicas para valorar la función hepática son poco específicas y poco sensibles para predecir la capacidad de síntesis de sustancias endógenas por el hígado. Además, son poco útiles para calcular la reserva hepática para metabolizar fármacos. La biotransformación de la antipirina depende de la actividad microsómica ligada al P-450 y, por lo tanto, su cinética de eliminación está claramente influida por la inhibición o inducción que fármacos o sustancias exógenas puedan ejercer sobre la actividad del sistema enzimático de la fracción microsómica hepática.

La prueba de la antipirina permite la detección temprana de disfunción oxidativa producida por vinorelbina, con una escala sensitiva, lo cual podría ser muy útil en la monitorización de la posología de este fármaco, con el fin de individualizar las dosis, y así evitar intoxicaciones e infradosificaciones, tanto en los pacientes sin signos clínicos de hepatopatía previa a la administración del antineoplásico como en aquellos en quienes se sospecha una lesión hepática preexistente.

La determinación de la eliminación de antipirina antes y después del tratamiento con antineoplásicos y con fármacos eliminados por la misma subfamilia que la antipirina

proporciona una información directa del estado metabólico del hígado como resultado del tratamiento, de forma que en la utilización de esta prueba en humanos cada paciente puede ser su propio control.

## BIBLIOGRAFÍA

- O'Brien ME, Szczesna A, Karnicka H, Zatloukal P, Eisen T, Hartmann W, et al. Vinorelbine alternating oral and intravenous plus carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: results of a multicentre phase II study. *Ann Oncol*. 2004;15:921-7.
- Hanna NH. Second-line chemotherapy for non-small-cell lung cancer: recent data with pemetrexed. *Clin Lung Cancer*. 2004;5 Suppl 2:75-9.
- Sundar S, Decratis MP, O'Byrne KJ. Management of endocrine resistant breast cancer. *J Br Menopause Soc*. 2004;10:16-23.
- Khayat D, Covelli A, Variol P, Benhamouda A, Jacques C, Bugat R. Phase I and pharmacologic study of intravenous vinorelbine in patients with solid tumours. *ASCO*. 1995;14:A1518.
- Khayat D, Rixe O, Brunet R, Goupil A, Bugat R, Harousseau JL, et al. Pharmacokinetic linerty of i.v. vinorelbine from a intra-patient dose escalation study design. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2004;54:193-205.
- Van der Berg HW, Desai ZR, Wilson R. The pharmacokinetics of vincristine in man: reduced clearance associated with raised serum alkaline phosphatase and dose limited elimination. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1982;8:215-9.
- Zhou XJ, Rahamani R. Preclinical and clinical pharmacology of vinca alkaloids. *Drugs*. 1992;44 Suppl:1-16.
- Robieux I, Sorio R, Borsatti E, Cannizzaro R, Vitali V, Aita P, et al. Pharmacokinetics of vinorelbine in patients with liver metastases. *Clin Pharmacol Ther*. 1996;59:32-40.
- Kajita J, Kuwabara T, Kobayashi H, Kobayashi S. CYP3A4 is mainly responsible for the metabolism of a new vinca alkaloid, vinorelbine, in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. 2000;28:1121-7.
- Mc Evoy GK. AHFS Drug Information 1999. Bethesda: American Society of System Pharmacists. 1999;10:1025-9.
- Villeneuve JP, Thibeault MJ, Ampelas M, Fortunet-Fouin H, LaMarre L, Côté J, et al. Drug disposition in patients with HBsAg-positive chronic liver disease. *Dig Dis Sci*. 1987;32:710-4.
- Vesell ES. The antipyrine test in clinical pharmacology: conceptions and misconceptions. *Clin Pharmacol Ther*. 1979;26:275-87.
- Danhof M, Teunissen M. Antipyrine as a model drug to asses oxidative drug metabolizing activity in man. *Pharm Ind*. 1984;1:11-5.
- Brockmeyer NH, Gambichler T, Bader A, Kreuter A, Kurowski M, Sander P, et al. Impact of amphotericin B on the cytochrome P450 system in HIV-infected patients. *Eur J Med Res*. 2004;9:51-4.
- Ortiz de Urbina JJ, Jorquera F, Culebras J, Villares C, González-Gallego J, Tunon MJ. Effects of glutamine on antioxidants systems and hepatic detoxification in rats: influence of formulation. *Nutr Hosp*. 2004;19:73-82.
- Kitaichi K, Nakayama H, Ueyama J, Nadai M, Baba K, Takagi K, et al. Down-regulation of cytochrome P450 proteins and its activities by Shiga-like toxin II from *Escherichia coli* O157:H7. *Biochem Pharmacol*. 2004;67:1427-35.
- Fischer-Nielsen A, Puolsen HE, Hansen BA, Hage E, Keiding S. CCL4 cirrhosis in rats: irreversible histological changes and differentiated functional impairment. *J Hepatol*. 1991;12:110-7.
- Soto J, Sacristán JA, Alsar MJ. Valoración del metabolismo oxidativo microsomal hepático en pacientes con cirrosis mediante la eliminación de cafeína y antipirina. *Gastroenterol Hepatol*. 1992;15:185-90.
- Sansoe G, Silvano S, Mengozzi G, Todros L, Smedile A, Touscoz G, et al. Inappropriately low angiotensin II generation: a factor determining reduced kidney function and survival in patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2004;40:417-23.
- Ghoshal AK, Porta EA, Hartroft WS. The role of lipoperoxidation in the pathogenesis of fatty livers induced by phosphorus poisoning in rats. *Am J Pathol*. 1969;54:275-91.
- Capel ID, Jenner M, Pinnock NH, Williams DC. The effect of anti-cancer drugs on the plasma disposition of antipyrine and the biliary excretion of phenolphthalein in the rat. *Biochem Pharmacol*. 1978;27:1413-6.
- Capel ID, Jenner M, Dorrell HM, Williams DC. Hepatic function assessed (in rats) during chemotherapy with some anti-cancer drugs. *Clin Chem*. 1979;25:1381-3.
- Wissel PS. Dose dependent suppression of hepatic cytochrome P-450 content by doxorubicin and mitomycin-C correlation with antipyrine biotransformation. *Life Sci*. 1988;42:1139-45.
- Avram MJ, Krejcie TC, Niemann CU, Enders-Klein C, Shanks CA, Henthorn TK. Isoflurane alters the recirculatory pharmacokinetics of physiologic markers. *Anesthesiology*. 2000;92:1757-68.
- Blanco JG, Harrison PL, Evans WE, Relling MV. Human cytochrome P450 maximal activities in pediatric versus adult liver. *Drug Metab Dispos*. 2000;28:379-82.
- Morgan ET. Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection. *Drug Metab Rev*. 1997;29:1129-88.
- Groen K, Breimer DD. Antipyrine, theophylline and hexobarbital as *in vivo* P450 probe drugs. *Methods Enzymol*. 1996;272:169-77.
- Aarbakke J. Disposition and oxidative metabolism of antipyrine in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol*. 1978;43:64-8.
- Eichelbaum M, Spannbrucker M. Rapid and sensitive method for the determination of antipyrine in biological fluids by high pressure liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1977;140:288-92.
- Zhu M, Lin KF, Yeung RY, Li RC. Evaluation of the protective effects of *Schisandra chinensis* on phase I drug metabolism using a CCL4 intoxication model. *J Ethnopharmacol*. 1999;67:61-8.
- Brunner LJ, Dipiro JT, Feldman S. Antipyrine pharmacokinetics in the tail-suspended rat model. *J Pharm Exp Ther*. 1995;274:345-52.
- Hohnaker JA. A summary of vinorelbine (Navelbine) safety data from North American clinical trials. *Semin Oncol*. 1994;21 Suppl 10:42-6.
- Heidemann H, Holzlohner U, Heydemann J, Freitag T, Inselmann G. Effect of amphotericin B on hepatic cytochrome P-450 and glucose-6-phosphatase in the rat. *J Hepatol*. 1992;14:300-4.
- Walsh RM, Tanaka JJ, Malchesky PS, Sato N, Nakayama SI, Vogt DP, et al. Monoethylglycinexylidide formation as an independent measure of warm ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res*. 1995;59:361-5.
- Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology*. 1982;83:1183-90.
- Dianzani MU. Biochemical aspects of fatty liver. En: Slater TF, editor. *Biochemical mechanisms of liver injury*. New York: Academic Press; 1978. p. 45-96.
- Eguchi S, Lilja H, Hewitt WR, Middleton Y, Demetriou A, Rozga J. Loss and recovery of liver regeneration in rats with fulminant hepatic failure. *J Surg Res*. 1997;72:112-22.
- Scretkiewicz J. Effect of some anti-cancer drugs and combined chemotherapy on the pharmacokinetics of antipyrine in the rat. *Pol J Pharmacol*. 1995;47:519-24.
- Conti I, Tridico V, Duan L, Caccia S. Effects of L-fenfluramine on rat liver drug-metabolizing enzymes. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1991;71:163-74.
- Ramzan I, Chan M. Influence of fluconazole on antipyrine kinetics in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1993;18:273-6.
- Forrest JA, Finlayson NDC, Adjepon-Yamoah KK, Prescott LF. Antipyrine, paracetamol, and lignocaine elimination in chronic liver disease. *Br Med J*. 1977;1:1384-7.
- Fabre D, Bressolle F, Goméni R, Bouvert O, Dubois A, Raffanel C, et al. Identification of patients with impaired hepatic drug metabolism using a limited sampling procedure for estimation of phenazone (antipyrine) pharmacokinetic parameters. *Clin Pharmacokinet*. 1993;24:333-43.