



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”**

**Farmacocinética de Ciprofloxacino en Mono Rhesus con
Lesión Medular Experimental por Método de
Compresión y Sección.**

PAPIIT IN221706-3

PAPIIT IN209810

TESIS

Que para obtener el título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

César Daniel Ronces Ocampo

Director

Dra. en C. Leticia Cruz Antonio

Asesor:

Q.F.B. Irma Alejandre Razo

México, D.F. 2010





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”**

NOMBRE: Ronces Ocampo César Daniel

NUMERO DE CUENTA: 9928178-2

AÑO DE TERMINACION DE LA CARRERA: 2007

CARRERA: QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

ORIENTACIÓN: FARMACIA

TITULO DEL PROYECTO:

Farmacocinética de Ciprofloxacino en Mono Rhesus con Lesión Medular Experimental por Método de Compresión y Sección.

AREA DEL PROYECTO: FARMACOLOGÍA

DIRECTOR: Dra. en C. Leticia Cruz Antonio.

ASESOR: Q.F.B. Irma Alejandre Razo

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL PROYECTO:

PROYECTO CAMINA A.C. Proyecto para la cura de la parálisis. Calzada de Tlalpan 4430.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá.

Por ser un ejemplo para mí , por estar en los momentos más difíciles de mi vida y siempre contar con su apoyo, gracias por dejarme compartir ésta meta tan importante en mi vida, te amo.

A Vanessa.

Por darme lo mas preciado para mí, todos los momentos que hemos pasado juntos, por las metas y los fracasos de los cuales hemos aprendido mucho, gracias por compartir tu vida conmigo y hacerme el hombre mas feliz, te amo.

A Angel Daniel.

Por ser el mejor regalo que me ha dado la vida y darme los mejores momentos que he vivido, por demostrarme que siempre se pueden lograr las cosas si se tiene una inspiración, muchas gracias hijo por llegar a nuestras vidas, te amo mucho.

A la Dra. Leticia Cruz Antonio.

Por confiar en mí y brindarme toda su paciencia, gracias por ayudarme a cumplir éste proyecto de vida y contribuir a mi formación como profesionista.

A la Q.F.B. Irma Alejandre Razo.

Por las aportaciones y consejos tan valiosos para realizar éste proyecto, ayudando a enriquecerlo en lo mejor posible, muchas gracias.

A mis Sinodales.

Por las aportaciones y observaciones para éste trabajo ayudando a mejorarlo y enriquecerlo.

A Raymundo.

Por el apoyo brindado desde el inicio de ésta meta, aunque a veces nos equivoquemos, siempre podemos corregir nuestros errores, gracias.

Al buen tío Chava.

Por ser un incondicional en los momentos de desesperación y siempre tener un buen consejo para brindar, muchas gracias por el apoyo.

A todos los amigos con quien siempre conté:

Rocío, Lupe, Nancy, Oscar, Juan José, Toño Mendoza, y Carlos Cortés.

A Proyecto Camina A.C.

Dr. Guísar, Braulio, Angi, y Laura.



INDICE.

I. INTRODUCCION	1
II. MARCO TEORICO.....	3
A. SISTEMA NERVIOSO.....	3
1. Divisiones Simpática y Parasimpática del Sistema Nervioso Vegetativo o Autónomo.	4
a. Anatomía del Sistema Nervioso Simpático	4
b. Anatomía del Sistema Nervioso Parasimpático	5
2. Médula Espinal.....	6
a. Lesión de la Médula Espinal.....	7
b. Paraplejia y Cuadriplejia	10
B. LESIÓN MEDULAR EXPERIMENTAL	10
1. Traumas umbrales, Supraumbrales y Subumbrales.....	11
2. Tipo de Modelos Experimentales.....	12
a. Modelo de Ruptura por Corte (Sección).....	13
1). Técnica	13
2). Objetivo.....	14
b. Modelo de contusión por caída de peso o compresión.....	16
1). Técnica	16
2). Objetivo.....	16
C. FARMACOCINÉTICA	19
1. Definición	19
2. Cálculo de los Parámetros Farmacocinéticos	19
a. Aclaramiento Renal (CL).	19
b. Estimación del Área Bajo la Curva (ABC)	20
c. Volumen Aparente de Distribución (Vd)	20
d. Tiempo de Vida Media ($t_{1/2}$).....	21
D. CIPROFLOXACINO	21
1. Propiedades Físicas y Químicas	22
2. Mecanismo de Acción	22
3. Farmacocinética.....	23
4. Usos terapéuticos.....	24
a. Dosificación	24
5. Reacciones Adversas	24
a. Contraindicaciones	24
6. Interacciones Medicamentosas	25



E. CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN	26
1. Generalidades	26
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
IV. OBJETIVOS	30
1. Objetivo General	30
2. Objetivo Particular	30
V. HIPÓTESIS	31
VI. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
1. Clasificación del Estudio	32
2. Población Objetivo	32
a. Criterios de Inclusión	32
b. Criterios de Exclusión	32
c. Criterios de Eliminación	32
3. Metodología	33
3.1. Material	33
3.2. Reactivos	33
3.3. Equipo e Instrumentos	33
3.4. Programas Computacionales	34
4. Desarrollo Experimental	34
4.1. Manejo de Primates Sometidos a Investigación	34
4.1.1. Antes del Tratamiento Quirúrgico	34
4.1.2. Tratamiento Quirúrgico	35
4.2. Estudio Farmacocinético Posterior a la Lesión	36
5. Método Analítico	36
6. Sistema Cromatográfico	36
7. Preparación de la curva de calibración	37
8. Tratamiento de las muestras	37
9. Diagrama de flujo	38
VII. RESULTADOS	40
1. Curva Estándar	40
a. Precisión y Exactitud	41
b. Selectividad del Método	41
2. Cursos Temporales de Ciprofloxacino en Monos Rhesus Macho Previo a una LTME (Lesión Traumática de Médula Espinal)	43
3. Perfiles Farmacocinéticos de Ciprofloxacino en Monos Rhesus Macho 24h después de una LTME	44
3.1. LTME por Corte (Sección Completa)	44



3.2. LTME por Compresión a Nivel T9 (90%)	46
3.3. LTME por Compresión a Nivel T9 (100%)	47
VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS	48
IX. CONCLUSIONES	60
X. APLICACIÓN DEL PROYECTO	61
XI. BIBLIOGRAFIA	62
XII. ANEXO	66



I. INTRODUCCION.

En la actualidad la lesión traumática de medula espinal (LTME) ha captado el interés de diversas disciplinas científicas y tecnológicas, dado que dicha lesión en humanos representa un problema socioeconómico y emocional de gran magnitud. Su manejo integral es muy complejo por lo que requiere de la intervención de un gran grupo interdisciplinario y de tecnología especializada, desde el momento de ocurrido el accidente hasta la rehabilitación del paciente generalmente con graves secuelas neurológicas permanentes.

Hasta a mediados de los años cuarenta, la mayoría de los pacientes con LTME morían durante las primeras horas como resultado del trauma inicial, o en las siguientes semanas a consecuencia de infecciones y otras complicaciones. En la actualidad se ha mejorado notablemente la posibilidad de sobrevivencia, sin embargo la incidencia de morbi-mortalidad sigue siendo considerablemente elevada, aún en los centros de atención especializados en este tipo de lesión.

Una lesión de la médula espinal puede ocurrir debido a un golpe, compresión o daño debido a una enfermedad de la columna vertebral o la médula espinal. En la mayoría de las lesiones de la médula espinal, los huesos de la espalda o vértebras pueden presionar la médula e inflamarla, o bien desgarrar el cordón espinal y/o sus fibras nerviosas. Una enfermedad o infección puede causar resultados similares.

Como consecuencia de ello se alteran funciones motoras, sensitivas y vegetativas. Dependiendo del nivel donde se produce esa interrupción, puede darse una paraplejía (parálisis de los miembros inferiores) o una tetraplejía (parálisis de miembros inferiores y superiores).

Además de las alteraciones antes mencionadas existen de igual manera complicaciones como son las infecciones de vías urinarias, de manera que es necesaria la administración de antibióticos como el ciprofloxacino, un antimicrobiano del grupo de las quinolonas, que es un agente eficaz contra bacterias grampositivas y gramnegativas.

Una lesión medular no significa únicamente no poder andar, es también tener alterada la fisiología (sensibilidad corporal, las relaciones sexuales, alteración del control de esfínteres, etc.) por lo que la persona pasa de una vida sana e independiente a tener que adaptarse a una nueva situación personal y a nuevas formas de vida y relación con el entorno.

El objetivo de la terapéutica es obtener un resultado benéfico sin o con efectos adversos mínimos. Cuando se ha seleccionado un medicamento para un paciente, el clínico debe determinar la dosis más aproximada a éste objetivo. En un procedimiento racional, se combinan los principios de la farmacocinética y la farmacodinamia para determinar la relación dosis-efecto. El conocimiento de la relación entre las concentraciones y los efectos de un fármaco permiten tomar en cuenta las diversas características patológicas y



fisiológicas de un paciente en particular que lo difieren del individuo promedio en cuanto a la respuesta al fármaco. Por tanto, la importancia de la farmacocinética y la farmacodinamia en los cuidados del paciente se basa en mejorar los beneficios terapéuticos, y en la reducción de la toxicidad que pueden lograrse aplicando sus principios.⁽¹⁾

La dosis promedio de un fármaco se determina mediante pruebas realizadas en voluntarios sanos, así como en pacientes con capacidad promedio de absorber, distribuir, y eliminar el fármaco. Sin embargo, ésta dosis no será adecuada para todos los pacientes. Varios procesos fisiológicos y patológicos (como insuficiencias cardíacas y renales), sugieren ajustes necesarios en la dosificación para pacientes individuales, dado que estos procesos modifican parámetros farmacocinéticos específicos.⁽¹⁾ En particular para individuos con lesión traumática de médula espinal las alteraciones metabólicas y sistémicas provocadas por ésta pueden inducir cambios en la disposición de algunos fármacos.⁽²⁻⁴⁾

El objetivo de éste estudio fué determinar la farmacocinética de ciprofloxacino en primates no humanos de la especie mono *rhesus* con lesión medular experimental provocada por dos métodos diferentes, el método de compresión al 90-100% y sección medular a nivel de la vértebra torácica 9 (T9). En una primera etapa obteniendo la farmacocinética de ciprofloxacino en individuos sanos aproximadamente del mismo peso y edad, administrando una cantidad equivalente de 10 mg/Kg de ciprofloxacino por infusión intravenosa en 30 minutos, a partir del cual se tomaron muestras de sangre antes de la administración del fármaco y a los 7.5, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, y 600 minutos después de la administración. Una vez terminado el muestreo se le dio tratamiento a cada una de las muestras, posteriormente fueron analizadas por medio de la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), determinando la farmacocinética en estado sano.

En la segunda etapa del estudio, se sometió a cada individuo a una lesión medular a nivel T9 por método de compresión medular dos intensidades 90% y 100% o sección completa, 24 h después de la lesión se realizó nuevamente el estudio farmacocinético administrando la misma dosis de ciprofloxacino por vía intravenosa para obtener la farmacocinética antes y después de la lesión medular y así poder determinar los cambios en los resultados obtenidos en dichos estudios. De igual manera se realizan dos estudios más a los 15 días, y dos meses posteriores a la lesión medular.



II. MARCO TEORICO.

A. SISTEMA NERVIOSO. ⁽¹⁾

Clásicamente se ha dividido el Sistema Nervioso (SN) en un componente central (SNC), encargado de alojar los centros de procesamiento de la información y que está formado por el encéfalo y la médula espinal, y un componente periférico, el sistema nervioso periférico (SNP), que tiene como misión fundamental vehicular la información desde y hacia el SNC y que se encuentra formado por los pares craneales y los pares raquídeos o nervios espinales.

De ésta manera, el SNC es un procesador de información que le llega como aferencias desde los distintos tipos de receptores (estímulos sensitivos). En el SNC se examina la información y se analiza una respuesta eferente que saldrá vía SNP, en busca de los órganos efectores, que pueden ser de distinto tipo: musculares (respuestas motoras) y glandulares (respuestas humorales), entre otros.

El sistema nervioso central se divide en encéfalo y médula espinal, el primero a su vez está compuesto por el cerebro, el cerebelo, y el tronco del encéfalo, y este último, por el mesencéfalo, la protuberancia y el bulbo raquídeo.

Desde un punto de vista funcional, el SN se puede clasificar en:

-SN aferente: hace referencia a los sistemas sensitivos que recogen, transmiten, analizan, e interrelacionan la información sensitiva.

-SN eferente: conjunto de elementos encargados de los movimientos de los músculos esqueléticos en cuanto a su génesis, control, modulación, etc.

El sistema nervioso autónomo regula las funciones internas del cuerpo. Consiste en dos divisiones separadas: 1) sistema nervioso simpático y 2) sistema nervioso parasimpático. Ambos reciben estimulación de diversos centros cerebrales, localizados especialmente en el hipotálamo y el tallo cerebral.

De importancia especial entre las funciones simpáticas están: 1) regulación del grado de vasoconstricción de la piel y, por lo tanto, del grado de pérdida del calor del cuerpo; 2) regulación del grado de sudoración por las glándulas sudoríparas, lo que ayuda también a regular la pérdida de calor; 3) regulación de la frecuencia cardíaca; 4) regulación de la presión arterial; 5) inhibición de la secreción y los movimientos gastrointestinales, y por último; 6) aumento del metabolismo en la mayor parte de las células del cuerpo.⁽¹⁾



1. Divisiones Simpática y Parasimpática del Sistema Nervioso Vegetativo o Autónomo. ⁽¹⁾

El sistema nervioso autónomo tiene dos divisiones separadas: simpática y parasimpática. Las diferencias entre ambas consisten primero, en las distribuciones anatómicas de las fibras nerviosas de ambas divisiones que son diferentes entre si. Segundo, los efectos estimuladores de ambas divisiones sobre los órganos suelen ser antagónicas entre si. Y tercero, los tipos de sustancias hormonales transmisoras secretadas en las terminaciones nerviosas suelen ser diferentes entre ambos sistemas.

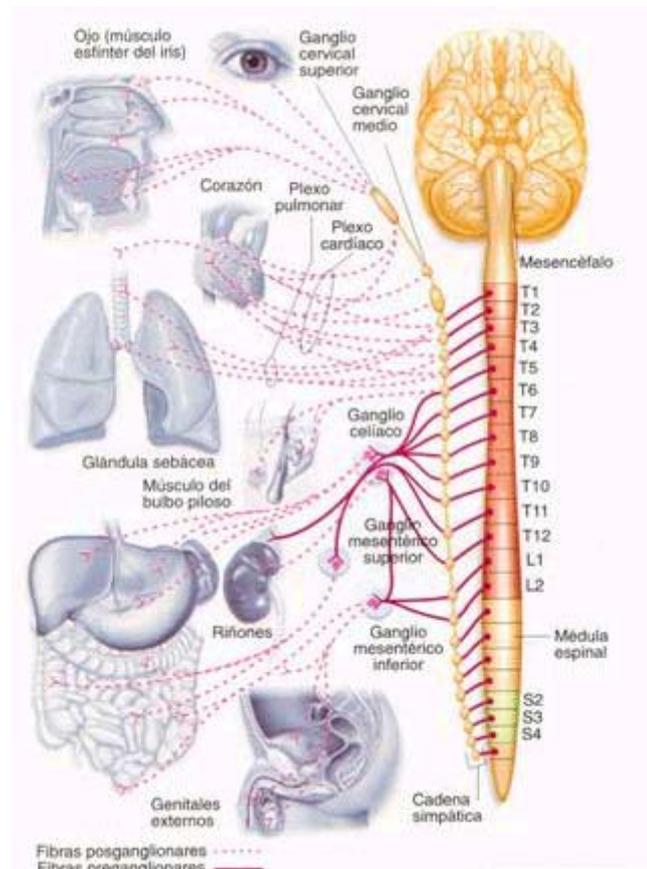


Figura 1. División del sistema nervioso autónomo. ⁽²⁾

a. Anatomía del Sistema Nervioso Simpático. ⁽¹⁾

La figura 1, es una representación esquemática del sistema nervioso simpático. Obsérvese la cadena simpática que se encuentra a cada lado de la médula espinal, sus conexiones con la medula y con diversos órganos. De manera periódica, a lo largo de cada cadena se encuentran engrosamientos bulbosos pequeños, llamados ganglios simpáticos, que contienen cuerpos celulares neuronales.



Existe un ganglio simpático por cada segmento dorsal y lumbar de la médula espinal, pero solo hay tres ganglios simpáticos sacros, muy pequeños. Las fibras simpáticas se extienden desde la cadena simpática hacia todas las vísceras del cuerpo.

Además de los ganglios de la cadena simpática se encuentran otros ganglios más en el plexo simpático de la cavidad abdominal. A partir de los ganglios de estos plexos se distribuyen casi todas las fibras nerviosas simpáticas terminales hacia los órganos abdominales.

Los nervios simpáticos entran en la cadena simpática desde la médula espinal sólo a partir de los segmentos dorsales y los tres primeros lumbares de la médula, y ninguna entra desde el cuello, parte baja de la región lumbar o región sacra. Para brindar a la cabeza inervación simpática, las fibras se extienden desde la cadena dorsal hacia arriba de la porción cervical de la cadena, y a continuación se distribuyen a lo largo de las arterias de cuello y cabeza hacia cada órgano de esta última. Además, las fibras simpáticas se extienden hacia abajo justo por la porción lumbar de la cadena simpática en dirección a la parte baja del abdomen y las piernas.

b. Anatomía del Sistema Nervioso Parasimpático. ^(1,3)

Las fibras de este sistema se originan principalmente en el décimo nervio craneal, que es el nervio vago. Sin embargo, algunas fibras se originan en los nervios craneales tercero, séptimo, octavo y noveno, y también en varios segmentos sacros de la médula espinal, principalmente S2 a S4.

El nervio vago envía fibras parasimpáticas a corazón, pulmones y casi todos los órganos del abdomen. Los otros nervios craneales envían fibras parasimpáticas hacia la cabeza, y las fibras sacras inervan la vejiga urinaria y las partes inferiores del colon y recto. Sin embargo, como aproximadamente el 70 % de todas las fibras parasimpáticas del cuerpo pasan por el nervio vago, casi todos los fisiólogos, al pensar en el sistema parasimpático, lo hacen casi automáticamente sobre el propio nervio vago.



2. Médula Espinal.⁽¹⁾

Iniciaremos el estudio de las estructuras del SNC, implicadas en el movimiento por la médula espinal, pues en ella reside el control de los movimientos más elementales y de sustrato menos complejo.

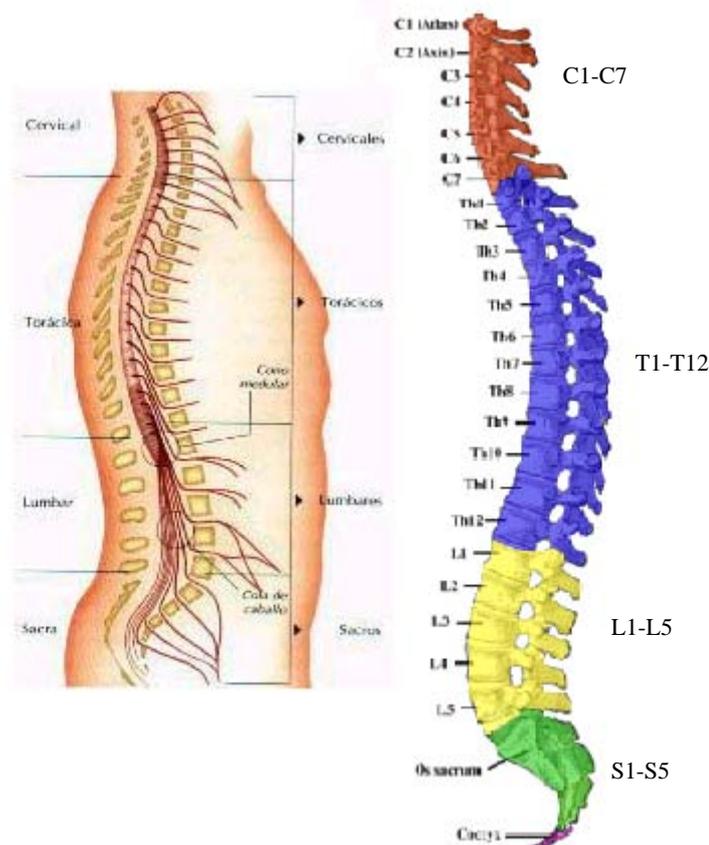


Figura 2. Columna vertebral humana.⁽⁴⁾

La médula se encuentra alojada en el conducto raquídeo formado por la columna vertebral (figura 2); además, un saco de duramadre separa el espacio epidural (entre la duramadre y el hueso) y el espacio subdural, donde la aracnoides y piamadre recubren la médula. Bajando las capas de la aracnoides se encuentra el líquido cefalorraquídeo, en el que flota la médula, la cual no ocupa todo el conducto óseo de la columna, sino que termina en la segunda vértebra lumbar, quedando desde aquí solo un conjunto de raicillas nerviosas que por su aspecto se conoce como cola de caballo.^(1,3)

Dando un corte transversal a la médula se pueden observar dos zonas bien diferenciadas (figura 3): la central, en forma de mariposa constituida por la sustancia gris (cuerpos neuronales), y la periférica, formada por la sustancia blanca (fibras o axones).

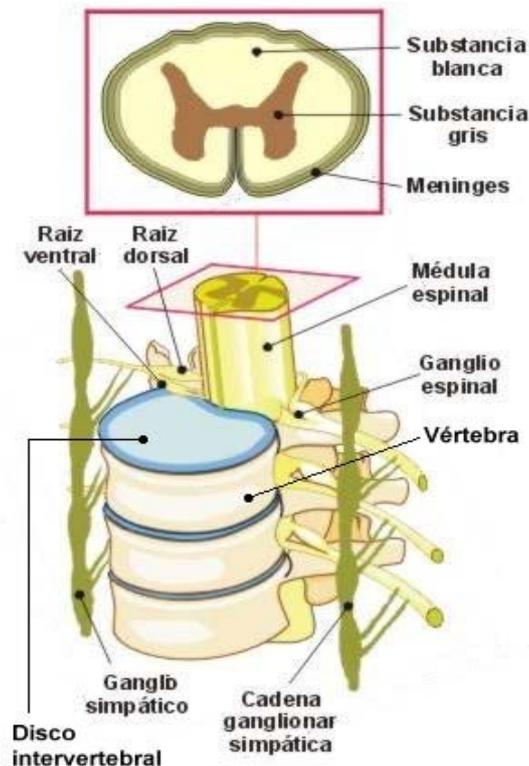


Figura 3. Estructura interna de la médula espinal. ⁽⁵⁾

La estructura de mariposa de la sustancia gris se encuentra constituida por cúmulos de neuronas con disposición laminar conocidas como zonas de Rexed. Desde el punto de vista microscópico, la sustancia gris presenta tres partes: las astas anteriores, las astas posteriores y una zona entre ambas denominada asta lateral. A su vez en la sustancia blanca se pueden distinguir tres partes: los cordones anterior, lateral y posterior.

a. Lesión de la Médula Espinal. ⁽⁶⁾

La lesión de médula espinal es una interrupción traumática de la integridad de la médula, que puede provocar una pérdida de sensibilidad y/o de movilidad. Las dos principales causas de una lesión medular son por:

- **Traumas** por accidente automovilístico, caídas, disparos, etc...
- **Enfermedades** como la poliomielitis, la espina bífida, tumores, etc...

Es importante señalar que la médula espinal no tiene que ser seccionada completamente para sufrir una pérdida de función. Una alteración traumática de la médula espinal, esto usualmente resulta en importantes alteraciones sistémicas y metabólicas, con implicaciones amenazantes para la vida y una rehabilitación



retardada, además con la posibilidad de presentarse una terapia con medicamentos inadecuada; debido a los cambios en la disposición y en la cinética de los fármacos, provocada por la disrupción del sistema nervioso autónomo induciendo cambios hemodinámicas los cuales modifican la absorción, distribución y eliminación de los medicamentos. ^(6,9)

Los efectos de una lesión de la médula espinal varían de acuerdo con el tipo y con el nivel de la lesión y se pueden dividir en dos tipos:

- En una *lesión completa* en la que no hay funcionalidad por debajo del nivel de la lesión. Los movimientos voluntarios así como la sensibilidad no son posibles. Las lesiones completas son siempre bilaterales, es decir, ambos lados del cuerpo se ven afectados del mismo modo.
- Una persona con una *lesión incompleta* puede tener algo de sensibilidad por debajo del nivel de la lesión. Las lesiones incompletas son variables, una persona con este tipo de lesión puede ser capaz de mover más un miembro que otro, pueden sentir partes del cuerpo que no pueden mover o quizás pueden tener mas funcionalidad en una parte del cuerpo que en otras.

Aparte de la pérdida de sensibilidad y de la función motora, los individuos con lesión de médula espinal suelen experimentar otros cambios.

Pueden presentar mal funcionamiento de la vejiga y los intestinos. Las funciones sexuales frecuentemente también se ven afectadas y, en el caso de la eyaculación, el hombre normalmente se ve disminuido en sus capacidades normales. Esto conlleva problemas en fertilización, caso contrario a la mayoría de las mujeres. Las lesiones producidas en un nivel muy alto de la espinal dorsal (C1-C2) suelen dar como resultado la pérdida de muchos movimientos involuntarios, como la respiración, lo que lleva al enfermo a necesitar respiradores mecánicos. Otros efectos pueden incluir la incapacidad de regulación del ritmo cardíaco (y por tanto la presión sanguínea), la reducción del control de la temperatura del cuerpo, la imposibilidad de sudar por debajo del nivel de la lesión así como dolor crónico o incontinencia. ^(7,8)

En la mayoría de las lesiones medulares, la dura y la aracnoides permanecen intactas. Las arterias espinales anterior y posterior usualmente son respetadas. Sin embargo, aun con grados moderados de trauma, pequeños vasos intramedulares pueden ser lesionados, lo cual produce hemorragia y lesión tisular; la disrupción traumática de estos vasos produce disminución del flujo tisular, lo cual conduce a necrosis hemorrágica de la sustancia gris central y a cambios vasculares y quísticos que se extienden a la sustancia blanca. Las alteraciones ultraestructurales consisten en la apertura de las pequeñas uniones del endotelio vascular, separación del endotelio de su membrana basal y acumulación de numerosos trombos de plaquetas. Dos aspectos deben tenerse siempre presentes:



- a. Los cambios patológicos primarios son secundarios a una alteración de la microcirculación
- b. Puede ocurrir alguna reacción metabólica lesiva después del trauma.

La duración del choque espinal, es variable, entre días y semanas en lesiones severas, minutos-horas en las más leves. Está presente tanto en las lesiones completas como en las incompletas, siendo muy difícil evaluar la extensión de la lesión medular, en relación con la duración del choque. La complejidad del mismo, hace que estén involucrados muchos órganos y sistemas. El choque espinal, está causado por la interrupción de las fibras ascendentes y descendentes (motoras, sensitivas y autónomas), con afectación temporal de la actividad refleja, parálisis muscular y visceral (insuficiencia respiratoria) y pérdida de la sensibilidad por debajo del nivel de la lesión, donde llegan a presentarse complicaciones vasomotoras, con falta de respuesta venosa y arterial, causando hipotensión, hipotermia y bradicardia. ⁽⁸⁻¹⁰⁾

Las alteraciones fisiológicas después de una lesión medular dependen de la localización, intensidad y el tiempo transcurrido después de la lesión. Estos factores son una dificultad para caracterizar bajo condiciones clínicas los problemas presentados posteriores a una lesión medular, debido a las considerables variaciones interindividuales en pacientes con lesión medular severa. Los modelos experimentales son una opción para estudiar los cambios farmacocinéticos ocurridos después de una lesión medular severa. ⁽¹⁰⁾ Los modelos experimentales han sido usados para inducir la paraplejía bajo condiciones controladas en animales de laboratorio con el objetivo de reproducir las condiciones del trauma medular en los humanos, y alcanzar algunas mediciones terapéuticas que ayuden al restablecimiento de este mal. ⁽¹¹⁾

La información proporcionada en los modelos experimentales ha permitido diseñar una estrategia para mantener los niveles de concentración plasmática efectivos de algunos fármacos tales como la ciclosporinas durante las diversas fases de una lesión medular severa ⁽¹⁰⁾. Hasta el momento casi todos los estudios de la influencia de una lesión traumática de médula espinal experimental sobre la farmacocinética de algunos fármacos esta documentada usando como modelo animal a la rata, y en algunos casos el conejo. ⁽⁶⁻⁸⁾

Las lesiones de la médula espinal son frecuentes y los efectos, por lo general, son devastadores. En los Estados Unidos hay mas de 200 000 personas con parálisis como consecuencia de una lesión de médula espinal, son principalmente personas jóvenes, la mayoría victima de accidentes con automóviles o motocicletas. Cuando la lesión ocurre por debajo de la segunda vértebra lumbar, es probable que sean dañados los nervios raquídeos en la cola de caballo, más que en la médula espinal.



En este caso, las pérdidas de funciones sensitivas y motoras es probable que sean irregulares e incompletas. Pero la recuperación de nervios periféricos es más prometedora que la de una lesión de la médula espinal. Una lesión espinal en niveles altos a menudo da como resultado una transección completa, con un nivel brusco de interrupción de funciones sensitivas y motoras. Si se proporcionan buenos cuidados, es probable la supervivencia de los segmentos raquídeos por debajo del nivel de la lesión. ⁽¹²⁾

b. Paraplejía y Cuadraplejía.

La pérdida de fuerza en las extremidades inferiores, como consecuencia de una transección espinal, identifica a una paraplejía. Las lesiones en niveles cervicales severas dan como resultado una cuadraplejía. Las personas con transección en el nivel del segundo segmento cervical pueden sobrevivir si reciben de inmediato una respiración artificial adecuada y en forma permanente, dado que el centro respiratorio queda separado de los nervios intercostales y frénicos. ⁽¹²⁾

La médula puede lesionarse por fractura de la columna vertebral o por luxación, por heridas penetrantes causadas por fragmentos metálicos de proyectiles o por otras causas traumáticas. Una sección horizontal completa causa pérdida de todo tipo de sensibilidad y movimientos voluntarios debajo del sitio de la lesión. El paciente queda cuadrapléjico (parálisis de ambos brazos y ambas piernas), si la parte cervical de la médula espinal esta seccionada, o parapléjico (ambas piernas paralizadas), si la sección es entre las intumescencias cervical y lumbar. Hay un periodo inicial de choque medular, que dura desde unos días hasta varias semanas, durante el cual está abolida toda actividad refleja somática y visceral. Al regresar la actividad refleja hay una espasticidad muscular y reflejos tendinosos exagerados. Las funciones voluntarias de la vejiga y los intestinos quedan fuera de control. ⁽¹³⁾

B. LESIÓN MEDULAR EXPERIMENTAL. ^(11,14)

Los modelos experimentales han sido usados para inducir paraplejía bajo un ambiente controlado en animales de laboratorio con el objetivo de reproducir las condiciones del trauma espinal en humanos y alcanzar algunas mediciones terapéuticas para curar la paraplejía. De forma general, varios modelos experimentales ofrecen la posibilidad de inducir traumas variando la intensidad del daño, pero no todos los traumas resultan en una paraplejía permanente en los animales. Es por ello importante analizar diferencias entre los diferentes modelos y diferentes grados de severidad del trauma para alcanzar una clara condición de la paraplejía que nos lleve a un mejor entendimiento de las bases anatómicas e histopatológicas de la paraplejía que provocaran diversas alteraciones. ⁽¹¹⁾



Los animales de laboratorio con severos traumas espinales (paraplejia permanente) muestran varias disfunciones somáticas y autónomas. De las varias disfunciones que presentan están: la hipotermia, problemas de vejiga, y autofagia, los cuales son de una naturaleza seria. La condición de los animales con estas complicaciones tiende a deteriorarse rápidamente. ⁽¹⁴⁾

Previo a la descripción de los modelos experimentales de lesión medular que se emplearon en este proyecto es importante aclarar algunas terminologías y conceptos usados en la descripción de los mismos, los mas relevantes (trauma, trauma umbral, supraumbral y subumbral) se detallarán inicialmente y algunos otros se presentan de forma gráfica en las figuras.

1. Traumas umbrales, supraumbrales y subumbrales. ⁽¹¹⁾

Trauma o lesión medular. Generalmente en términos clínicos está definido como un trauma provocado por contusión, compresión, corte, o laceración, sobre la médula. Éstos términos reflejan finalmente los cambios anatómicos observados provocados por las diferentes técnicas de lesión medular, y en algunos casos describen los instrumentos o técnicas usadas en la lesión. .

Trauma umbral o supraumbral. Es el trauma que conlleva a un síndrome parapléjico permanente.

Trauma subumbral. Trauma que no produce una paraplejia permanente y el término de paraplejia transitoria puede ser propiamente aplicado.

La Figura 4 ilustra la naturaleza del trauma y las condiciones patológicas en la médula espinal seguidas de una lesión severa tipo laceración, observándose: a) En el momento en el que ocurre el trauma, las regiones del trauma directo primario (dpt) por sus siglas en inglés, y el trauma indirecto primario (idpt) por sus siglas en inglés, pueden ser distinguidas. La región del trauma directo primario (dpt), está definida por la región de la médula espinal la cual está directamente afectada por el corte quirúrgico o el impacto por la caída de un peso definido sobre la médula espinal y el tejido que está extirpado o necrosado en el momento del trauma. La región del trauma indirecto primario (idpt) contiene masa neuronal y axones esparcidos por el bisturí o las tijeras quirúrgicas, y en ésta etapa ellos parecen intactos, pero afectados a tal grado que ninguna manipulación posterior o condición patológica podrá inducir regeneración en ellos. b) Después del trauma primario los cambios observados más importantemente son la hemorragia, el edema y la isquemia. Éstos son conocidos como cambios patológicos secundarios (spc, por sus siglas en inglés) subsiguientes al trauma primario. Estos ocupan la región del trauma indirecto primario así como también más allá del parénquima de la médula espinal.



c) Después de las condiciones patológicas secundarias, se presenta un hundimiento, y cambios progresivos degenerativos (pd, por sus siglas en inglés) son observados en la médula espinal. Estos pueden presentarse como una ligera atrofia, una reacción glial en la forma de proliferación glial e hipertrofia glial, desmielinización y/o degeneración de los axones sobrantes. El efecto acumulativo de éstos cambios traumáticos y patológicos severos es la completa o parcial ruptura de la médula espinal. ⁽¹¹⁾

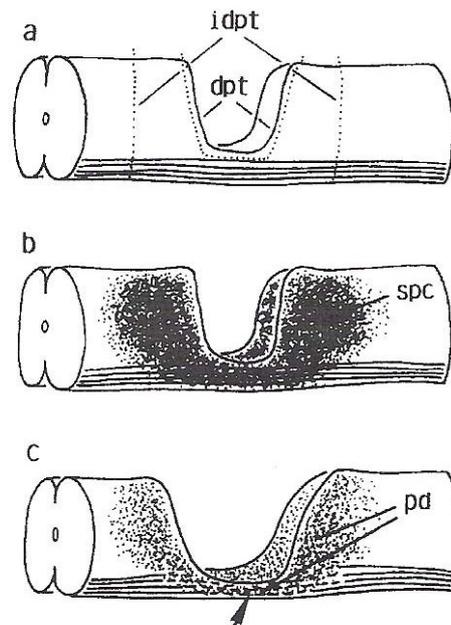


Fig. 4. Representación esquemática de la naturaleza del trauma y condiciones histopatológicas de la médula espinal seguida de una lesión severa tipo laceración. ⁽¹¹⁾

2. Tipo de Modelos Experimentales para inducir lesión medular. ⁽¹¹⁾

De forma general existen tres modelos experimentales para inducir un trauma en la médula espinal: modelo de caída de un peso, el modelo de corte y el modelo tipo laceración. Cada modelo tiene muchas variaciones, pero su objetivo es el mismo. No obstante todos los modelos experimentales tienen todos los constituyentes de un daño es decir, los traumas directos e indirecto primarios, condiciones patológicas secundarias y cambios progresivos degenerativos, difieren en la predominancia de una condición sobre otra. Por ejemplo, el modelo de caída de peso se caracteriza predominantemente por cambios patológicos secundarios, el modelo de corte por el trauma directo primario en tanto en el modelo tipo laceraciones se caracteriza por cambios degenerativos progresivos.



Cada uno de los modelos experimentales, están además caracterizados por sus propias y únicas acepciones, ventajas y limitaciones, no obstante, el resultado final es una lesión medular que dependiendo de la intensidad y el nivel de lesión puede provocar una paraplejia o tetrapejia.

Es esencial por lo tanto conocer sus características para determinar la magnitud de las conclusiones de determinado estudio dependiendo del modelo experimental estudiado.

a. Modelo de Ruptura por Corte (Sección).⁽¹¹⁾

Este modelo es un trauma inducido en la médula espinal, es aplicado comúnmente en la neurobiología. Las lesiones por corte pueden variar considerablemente en el plano transversal resultando en hemisección, sección unilateral o bilateral parcial, o completa sección bilateral de la médula espinal. Bajo estas condiciones experimentales únicamente las lesiones bilaterales completas resultan en una paraplejia permanente.

1). Técnica.

En una anestesia profunda la médula espinal es expuesta para la lesión. Generalmente los niveles torácicos bajos de la médula espinal son las regiones preferidas para hacer este tipo de lesión. Bajo un microscopio quirúrgico, la médula espinal es cuidadosamente seccionada con un bisturí o navaja quirúrgica. Algunos investigadores emplean equipo de electro-cauterización para dañar la médula espinal directamente y controlar al mismo tiempo la hemorragia. Es probable que otros investigadores que usen un bisturí o navaja quirúrgica para hacer las lesiones también usen electro-cauterización o electrocoagulación para controlar la hemorragia después de la lesión.

La electro-cauterización o electrocoagulación para hacer la lesión directamente o para controlar la hemorragia seguida a la lesión por otro instrumento quirúrgico, el cual tiene una gran velocidad de quemado y de la formación de la cicatriz glial en el sitio de la lesión, resaltando su importancia en el hecho de que bajo estas condiciones ni el tejido neuronal es removido del sitio de la lesión o una gran cantidad de tejido neuronal necrótico está adherido en la hoja de bisturí detrás del sitio de la lesión.



2). Objetivo.

El objetivo de este modelo experimental de lesión es el corte de las fibras axonales en la materia blanca de la médula espinal. En este tipo de lesión, el trauma primario directo se presenta por el corte de los axones en la materia blanca, en la materia gris y en los vasos capilares que están en el trayecto del corte. Este tipo de lesiones son relativamente limpias en línea recta y limitado en la extensión caudo-rostral. Bajo condiciones experimentales la región del trauma primario indirecto está restringida, y cercana a los bordes de la lesión. Sin embargo, otras varias manipulaciones de médula espinal, tal como presionar y secar la médula espinal por presión con una gasa, puede contribuir a un incremento en el trauma primario indirecto, y de este modo, ampliar la zona de la lesión. Dos consideraciones importantes deben tomarse en cuenta en el desarrollo de éste modelo experimental, primeramente las lesiones hechas por corte no son descritas en términos cuantitativos o semicuantitativos, y por lo tanto las lesiones reportadas en algunos estudios no son comparables y esto afecta la reproducibilidad de los experimentos. Segundo, en la mayoría de los estudios la naturaleza y el grado inicial del trauma no es descrito del todo.

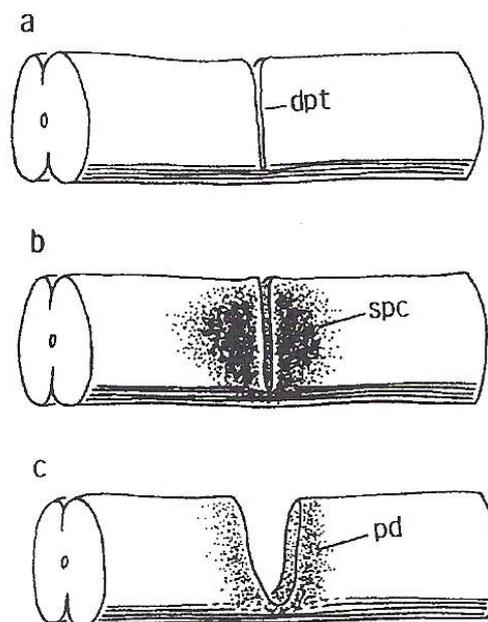


Fig. 5. Lesión medular por corte parcial. ⁽¹¹⁾

Generalmente es la apariencia final de la lesión lo que está descrito, y a menudo es confuso con el trauma inicial. Las diferencias marcan por cada técnica de lesión de importancia crítica, particularmente cuando el estudio corresponde al aumento o regeneración axonal siguiendo algún tratamiento experimental especial en animales.



En la figura 5 la imagen muestra el desarrollo de los eventos patológicos seguidos de un *corte o sección parcial* en la médula espinal con un bisturí. a) El corte de la médula espinal en el trauma directo primario (dpt), por más del 80-90 % en plano transverso implica la sección de la materia gris y una gran cantidad de materia blanca. En éste caso, implica la sección total de todos los axones en el funículo dorsal y lateral, y algunos axones en el funículo ventral. b) Seguida de una cantidad de reacción patológica secundaria (spc) se observa en la médula espinal, en forma de hemorragia, edema e isquemia. Éstas condiciones patológicas secundarias son limitadas cercanamente al sitio de lesión y pueden o no extenderse a lo largo del cordón de parénquima. c) Como las condiciones patológicas secundarias se evidencian y la masa neurótica está claramente por fuera, la lesión aparentemente crece a lo largo como resultado de la inmersión de la médula. No obstante lo anterior, la médula no llegará a estar completamente dañada. Algunos axones cercanos a la lesión, que fueron sujetos a un trauma primario indirecto, aparecen fragmentados y dañados, pero algunos lejanos a la lesión están intactos. Los animales con un número pequeño de axones preservados como se muestra en la imagen, muestran una recuperación espontánea del síndrome parapléjico transitorio.

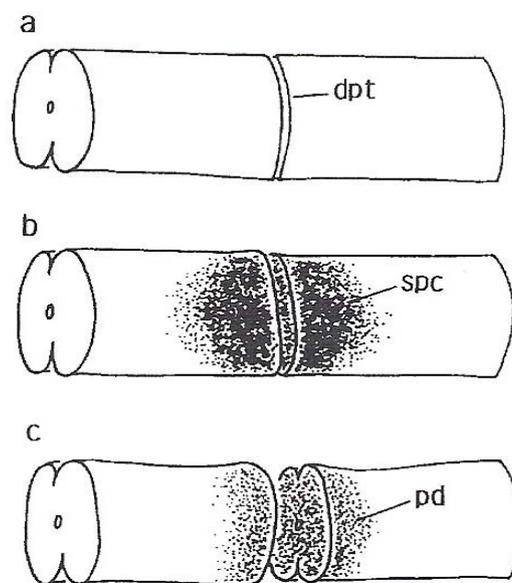


Fig. 6. Lesión medular por corte completo (sección completa).⁽¹¹⁾

El desarrollo de los eventos patológicos seguidos de un *corte o sección total* en la médula espinal con un bisturí, se presenta en la figura 6. a) Una lesión tipo sección severa total de la médula espinal involucra daño en toda la materia gris y todos los axones en la materia blanca. En éste trauma directo primario (dpt), no existe continuidad parenquimnal entre las dos terminaciones del corte en la médula espinal. b) Posterior al corte, una gran cantidad de reacciones patológicas secundarias (spc) son observadas en el parénquima de la médula espinal en forma de hemorragia, edema e isquemia. Éstas condiciones patológicas secundarias son



generalmente limitadas y confinadas al sitio de la lesión y no se extienden a lo largo de la médula espinal. c) Como las condiciones patológicas secundarias se asientan y el tejido necrótico es eliminado, los dos extremos de la médula espinal son lejanamente separados como resultado de la depresión realizada. Cambios progresivos degenerativos (dp) podrían estar presentes, pero dependiendo de las técnicas empleadas en el control hemorrágico pueden o no ser extensivos. Los animales con estas lesiones son parapléjicos permanentemente.

b. Modelo de contusión por caída de peso o compresión. ⁽¹¹⁾

La técnica de contusión es desarrollada por Allen en 1911, con el objetivo de inducir una contusión en un trauma tipo compresión de manera cuantitativa. Ésta técnica es usada de una manera muy extensa por los patólogos, neuropatólogos, y ha sido modificada por varios autores. En la literatura un historial a fondo y un aspecto técnico de éste modelo ha sido revisado por varios investigadores en este campo.

1) Técnica.

Para este tipo de traumas, los animales son anestesiados de manera profunda, y la médula espinal es expuesta en la zona en que se desea provocar la lesión. Un peso predeterminado se deja caer sobre la médula espinal expuesta en tal caso, de modo que la caída provoque una lesión bilateral en el septo posterior. Con ésta técnica la fuerza del impacto en la médula espinal puede ser determinada, y de este modo la intensidad de la degradación del trauma es cuantificado. Con el paso de los años, se han presentado varias modificaciones a esta técnica, incluyendo *compresión* por una cánula inflable que es introducida en la médula espinal.

2). Objetivo.

El objetivo de ésta técnica es generar un trauma por contusión o por *compresión en la médula espinal* sin cortar los axones de la materia blanca o de la materia gris directamente. Desde este punto de vista, el trauma primario directo es la compresión de la médula espinal bajo el peso por la duración del impacto. Desde el sitio del impacto es identificable los efectos del trauma primario directo, el cual se denotará como la formación de un hematoma, sin embargo la contusión por caída de un objeto podría ser impreciso y provocar un desarrollo de trauma primario indirecto no uniforme, en la figura 7, se ilustra el desarrollo del trauma equilibrado, al realizar el impacto sobre la médula de forma centralizada a ésta.

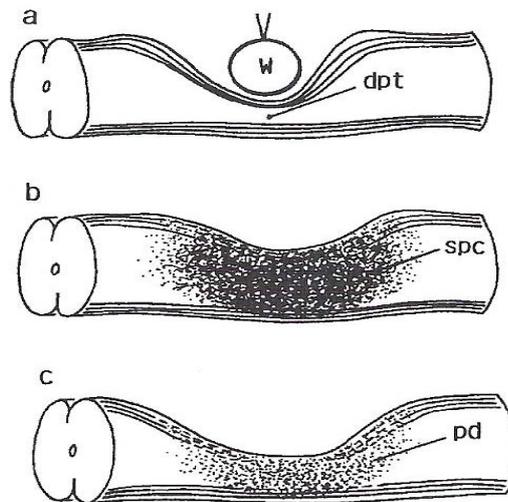


Fig. 7. Lesión medular por caída de peso.⁽¹¹⁾

La figura 7, ilustra el desarrollo de los cambios patológicos en la médula espinal seguido por un trauma de tipo contusión inducido por la técnica de caída de peso, cuando éste es realizado de forma centralizada. Estas ilustraciones muestran los cambios histopatológicos bajo trauma de subumbral. a) La compresión del tejido directamente representa el trauma primario directo (dpt) por sus siglas en inglés. Con ésta técnica, los cambios traumáticos son observados en un modo tipo gradiente. Esto es el máximo alargamiento del aspecto dorsal donde el tejido es directamente afectado por el impacto, y un alargamiento mínimo del aspecto ventral donde el tejido no es afectado por el impacto directo. Los cambios traumáticos del impacto son observados siguiendo un gradiente dorso-ventral y próximo distal. b) Poco después de inducir la lesión, el trauma primario cambia y también las condiciones patológicas secundarias (spc, por sus siglas en inglés) pueden evidenciarse. Los cambios del trauma primario en éste caso incluyen disrupción de los elementos neuronales y neurogliales en la materia gris, los daños en la vasculatura parenquimal y subdural, que provocan daños en la mielina y fragmentan los axones en el gradiente dorso-ventral. La condición patológica secundaria se caracteriza por una excesiva cantidad de hemorragia y edema, y esto se propaga a manera de un gradiente en la médula espinal. c) Después, la masa necrótica tiende a ser despejada y las condiciones patológicas secundarias inducen un hundimiento en la médula espinal provocando una compresión de la misma, primordialmente en la zona inicial de la contusión. Los axones en el funículo dorsal y lateral están severamente dañados, y la materia gris en la zona del impacto está llena de elementos gliales reactivos. En el funículo ventral, aparecen algunos axones gradualmente degenerados por el resultado de los cambios degenerativos progresivos (pd, por sus siglas en inglés), y otros aparecen intactos.



Los animales con éste tipo de trauma pueden o no presentar completa recuperación en todos los reflejos, y una considerable recuperación de las funciones locomotoras y de soporte voluntarias, dependiendo de la intensidad y nivel de la contusión.

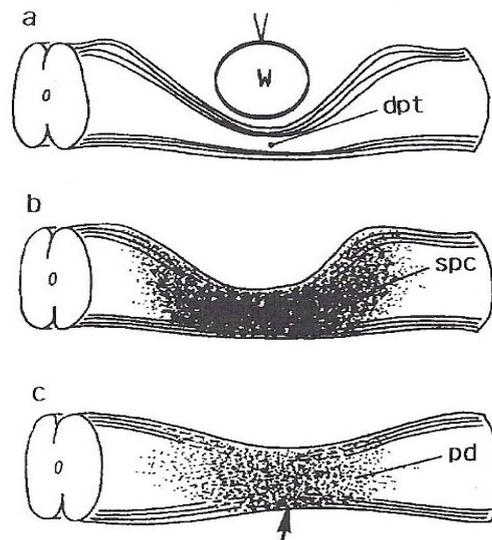


Fig. 8 Lesión medular por caída de peso. ⁽¹¹⁾

Los cambios histopatológicos en la médula espinal siguiendo un supraumbral inducido por un trauma tipo contusión se presentan en la figura 8, donde: a) La compresión del tejido de la médula espinal es directamente bajo el objeto que provoca la contusión, al igual que el trauma tipo corte, también se representa el trauma primario directo (dpt). Un trauma supraumbral afecta totalmente la médula espinal a lo largo del eje dorso-ventral sin alguna evidencia del cambio del gradiente. Conceptualmente, la totalidad de la médula espinal en éste grosor es en la fase inicial del gradiente traumático, de ahí que toda la estructura sea severamente afectada. b) Seguido del trauma, los cambios traumáticos primarios las condiciones patológicas secundarias (spc), pueden ser observadas. Los cambios traumáticos primarios incluyen disrupción de neuronas y células gliales en la materia gris, daño parenquimal y subdural en los vasos sanguíneos, y rompimiento de la mielina y fragmentación de los axones en todo el funículo. Las condiciones patológicas secundarias, particularmente hemorragia y edema, son observados y son propagados por todo el grosor de la médula espinal a lo largo de la zona del impacto y también en el parénquima de la médula espinal fuera de la zona del trauma. éstos cambios son muy extensos a lo lejos si se encuentra un trauma de impacto de supraumbral. c) Después, la masa hemorrágica tiende a ser eliminada y las condiciones patológicas secundarias inducen un tipo hundimiento originando que la médula espinal se torne altamente comprimida.

Ésta es una forma de cavidad en la médula, que induce que la materia gris en la región del trauma esté desprovisto de elementos neuronales, promoviendo la



aparición de la degeneración de masa contenida en un gran número de células gliales. Todos los axones en el funículo, incluyendo los del funículo ventral, aparecen con daño severo y fragmentación. Esto presenta un cuadro similar al de transección total de la médula espinal.

Los cambios progresivos degenerativos (pd) en forma de degeneración gradual de las neuronas en la médula espinal, y la degeneración de los axones distales en el sitio del trauma son observados por un largo tiempo. Los animales que presentan este tipo de trauma muestran paraplejia permanente.

C. FARMACOCINÉTICA. ⁽¹⁵⁾

1. Definición

La farmacocinética puede definirse como el estudio de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos relacionados con el tiempo que permanece el fármaco en el organismo o en uno o más de sus compartimientos.

Para producir sus efectos característicos, un fármaco debe alcanzar concentraciones adecuadas en los sitios en que actúa. Las concentraciones logradas, a pesar de que están en función de la dosis del producto administrado, también dependen de la magnitud y de la tasa de absorción, distribución, unión o localización en tejidos, biotransformación y excreción.

2. Cálculo de los Parámetros Farmacocinéticos. ⁽¹⁶⁾

Para fines prácticos sólo se tomarán en cuenta los parámetros para una administración intravenosa, ya que ésta es la vía de administración que será usada en éste experimento.

a. Depuración Renal (CL).

La depuración renal (CL) es definida como el volumen de plasma aclarado o filtrado de fármaco por unidad de tiempo. Las unidades son volumen por tiempo (por ejemplo mL/min). La depuración de un fármaco describe la eficiencia de la eliminación irreversible del fármaco en el cuerpo y puede ser considerado como el volumen de plasma al que se eliminan todas las moléculas del fármaco en un minuto. Su formula es:

$$CL = \frac{Dosis}{ABC_{0-t}}$$



Utilidad clínica del CL. La depuración es el parámetro que determina el índice de la dosis requerida para conseguir la concentración plasmática deseada en la fase estable.

b. Estimación del Área Bajo la Curva (ABC).

El método más común y conveniente para calcular el ABC, es por el método de trapecios. Este método puede ser usado por cualquier dato de tiempo-concentración independientemente de la ruta de administración. El ABC es calculada mediante el siguiente método: la concentración plasmática (C_p) 1 y el tiempo (t) 1 son el primer punto de la relación tiempo-concentración respectivamente y C_p2 y $t2$ son el segundo punto de la concentración plasmática, el área bajo la curva de la concentración plasmática-tiempo entre el $t1$ y $t2$ es:

$$ABC = \left[\left(\frac{C_{p1} + C_{p2}}{2} \right) * (t2 - t1) \right]$$

El área bajo la curva total es la suma de todas las áreas individuales de la curva tempo-concentración.

$$ABC_{0-t} = \sum \left(\frac{C_{p1} + C_{p2}}{2} \right) * (t2 - t1)$$

c. Volumen Aparente de Distribución (Vd).

Es definido como el factor que relaciona la concentración de fármaco en la sangre. Este término hipotético no quiere decir que se encuentre presente en el cuerpo. Un método para obtener el Vd es determinar el tiempo cero de concentración, C_0 , y la dosis (D).

$$Vd = \frac{D}{C_0}$$

Utilidad clínica del Vd. En algunas condiciones clínicas esto es importante para conseguir la concentración instantánea deseada. A menudo es usada una dosis y el Vd, es determinado para determinar la carga de la concentración.



d. Tiempo de Vida Media ($t_{1/2}$).

El tiempo de vida media determina el periodo en el cual la concentración del medicamento en el plasma disminuye a la mitad de la concentración total de este, y se determina con la siguiente formula para una cinética de orden cero.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{-(k_e)}$$

Utilidad clínica del $t_{1/2}$. La vida media determina el tiempo en el cual se alcanza la fase estacionaria en dosis múltiples. También determina el tiempo en el cual la fase estacionaria es alterada y/o determina el tiempo en el cual se elimina la mayor cantidad de fármaco del cuerpo.

D. CIPROFLOXACINO. ⁽¹⁷⁻²²⁾

Las fluoroquinolonas constituyen un grupo de agentes antimicrobianos de amplio espectro, al que cada vez se les ha incorporado nuevas moléculas que les favorecen, tanto microbiológicamente como farmacológicamente. Su introducción, desde hace varios años, ofrece al clínico un grupo de antimicrobianos, administrable oral o parenteralmente, con resultados terapéuticos excelentes en una gran variedad de procesos infecciosos.

Se han descrito una gran variedad de quinolonas, las cuales poseen propiedades farmacocinéticas favorables y tienen excelente actividad contra un amplio espectro de especies bacterianas Gram positivas y negativas. Entre éstas, el ciprofloxacino sigue siendo la fluoroquinolona más potente, con marcada actividad contra bacterias Gram negativas, así como también contra otros microorganismos, incluyendo numerosos patógenos intracelulares estrictos.

Es activo frente a un amplio espectro de bacterias Gram negativos aerobios, incluyendo patógenos entéricos, *Pseudomonas* y *Serratia marcescens*, aunque ya han empezado a aparecer cepas de *Pseudomonas* y *Serratia* resistentes. Igualmente es activo frente a bacterias Gram positivos, aunque también se han detectado resistencias en algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y pneumococos. No es activo frente a bacterias anaerobios. Se utiliza ocasionalmente, en combinación con otros antibacterianos, en el tratamiento de las infecciones por micobacterias (*M. tuberculosis*).⁽¹⁸⁾



1. Propiedades Físicas y Químicas.

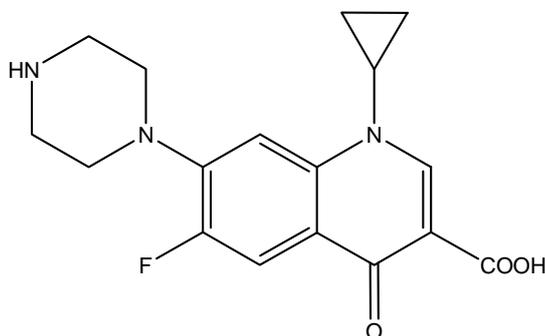


Figura 9. Estructura molecular de Ciprofloxacino. ⁽¹⁹⁾

Nombre químico: 1-Ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico

Fórmula condensada: C₁₇H₁₈FN₃O₃

Peso Molecular: 331.35 g/mol

Contiene no menos del 98.0 y no más del 102.0 % de ciprofloxacino clorhidrato, calculado como referencia a la sustancia seca. ⁽¹⁷⁾

Descripción y solubilidad. El ciprofloxacino, es un polvo cristalino amarillo pálido, poco soluble en agua, ligeramente soluble en ácido acético y en metanol; muy ligeramente soluble en alcohol anhidro; casi insoluble en acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, hexano y en cloruro de metileno. ⁽¹⁷⁾

Debe almacenarse en contenedores cerrados y a una temperatura menor de 30° C. El fármaco debe protegerse de una intensa radiación ultravioleta. Las soluciones acuosas de clorhidrato de ciprofloxacino con un pH de 1.5-7.5 son estables por un lapso de 14 días a temperatura ambiente. ^(17,19)

2. Mecanismo de Acción.

Los efectos antibacterianos de ciprofloxacino se deben a la inhibición de la topoisomerasa IV y la ADN-girasa bacterianas enzimas necesarias para separar el ADN (ácido desoxiribonucleico) replicado, inhibiendo la división celular. Estas topoisomerasas alteran el ADN introduciendo pliegues súper helicoidales en el ADN de doble cadena, facilitando el desenrollado de las cadenas. La ADN-girasa tiene dos subunidades codificadas por el gen y actúan rompiendo las cadenas del cromosoma bacteriano y luego pegándolas una vez que se ha formado la superhélice. Las quinolonas inhiben estas subunidades impidiendo la replicación y la transcripción del ADN bacteriano, aunque no se conoce con exactitud porqué la



inhibición de la ADN-girasa conduce a la muerte de la bacteria. Las células humanas y de los mamíferos contienen una topoisomerasa que actúa de una forma parecida a la ADN-girasa bacteriana, pero esta enzima no es afectada por las concentraciones bactericidas de ciprofloxacino.

Como todas las quinolonas, el ciprofloxacino muestra un efecto post-antibiótico: después de una exposición, las bacterias no pueden reiniciar su crecimiento durante unas 4 horas, aunque los niveles del antibiótico sean indetectables. ⁽²⁰⁾

3. Farmacocinética.

El ciprofloxacino se administra por vía oral o intravenosa. Después de una dosis oral, de ciprofloxacino se absorbe rápidamente en el tracto digestivo, experimentando un mínimo metabolismo en el primer paso. En ayunas se absorben un 70 % de la dosis alcanzándose las concentraciones plasmáticas máximas en 0.5 a 2.5 horas. Cuando el fármaco se administra con la comida, se retrasan las concentraciones máximas, sin que la absorción global se vea afectada. Después de una dosis oral de 500 mg las concentraciones plasmáticas son de 1.6 a 2.9 µg/mL. Después de una dosis intravenosa de 400 mg las concentraciones son de 4.6 µg/mL (Cuadro1). ⁽²³⁾

El ciprofloxacino se distribuye ampliamente por todo el organismo, siendo mínima su unión a las proteínas plasmáticas (del 20 al 30 %), por lo que la sustancia puede difundirse libremente al espacio extravascular. La penetración en el líquido cefalorraquídeo es mínima (6-10 % de la concentración sérica). Se alcanzan concentraciones superiores a las plasmáticas en la bilis, pulmones, riñones, hígado, vejiga, útero, tejido prostático, endometrio, las trompas de Falopio y los ovarios.

El 50 % de la dosis oral es excretada por vía renal como fármaco sin alterar. En pacientes con la función renal normal la vida media de eliminación es de 3 a 5 horas, pero puede aumentar a 12 horas en sujetos con insuficiencia renal. La excreción en heces alcanza el 20-40 % de la dosis. ^(20, 21,22)

Cuadro 1. Farmacocinética de ciprofloxacino ⁽²³⁾

Fármaco	Disponibilidad por vía oral (F) (%)	Excreción Urinaria (%)	Fijo en Plasma (%)	Depuración (L/h/70 Kg)	Volumen de distribución (L/70 Kg)	Vida Media (h)
Ciprofloxacino	60	65	40	25.2	130	4.1

Se ha demostrado que el ciprofloxacino es muy efectivo para el tratamiento de infecciones del tracto urinario y prostatitis, y para la enfermedad diarreica aguda causada por *E. coli*, *Shihella*, *Salmonella* y *Campylobacter*. ^(20,21)

4. Usos terapéuticos.

Es un agente alternativo en el tratamiento de infecciones causadas por bacterias sensibles a ciprofloxacino, localizadas en las vías respiratorias, aparato genitourinario, tracto gastrointestinal, vías biliares, tejidos blandos y además es alternativo en infecciones peritoneales, septicemia y gonorrea. ^(20,24)

a. Dosificación.

Adultos: 500 a 1500 mg/día, en 2 tomas diarias; entre 5 y 10 días. En gonorrea aguda, 1 día de tratamiento máximo hasta 2 meses, continuando el tratamiento 3 días después de la total desaparición de los signos y síntomas de la infección. En pacientes con insuficiencia renal, con depuración de creatinina de 31 mL/min/1.72 m³, 1 g oral u 800 mg vía intravenosa; menor que 30 mL, 500 mg oral o 400 mg vía intravenosa. ⁽²⁰⁾

5. Reacciones Adversas.

El ciprofloxacino se debe utilizar con precaución en niños menores de 16 años debido a las artralgiás que pueden desarrollar, en particular cuando éstas están asociadas con la fibrosis quística.

Se han observado efectos gastrointestinales hasta en el 10 % de los pacientes tratados, éstos consisten en náuseas y vómito, diarrea y dolor abdominal, siendo más frecuentes en la tercera edad y con las dosis más elevadas. Las reacciones de hipersensibilidad incluyen fiebre, eosinofilia, y nefritis intersticial. En menos del 1 % de los pacientes se presentan reacciones adversas cardiovasculares como palpitaciones, contracciones ventriculares prematuras, síncope, infarto del miocardio, paro cardíaco y trombosis cerebral. Aunque la relación entre éstos eventos y el ciprofloxacino no es muy clara. ^(18,24)



En el caso de ciprofloxacino oftálmico, se han descrito molestias y ardor local, habiéndose observado depósitos córneos blancos o cristalinos en algunos pacientes con úlceras córneas bacterianas.^(18,24)

a. Contraindicaciones.

No debe ser utilizada en pacientes con hipersensibilidad a las quinolonas. Dado que las fluoroquinolonas producen artropatías cuando se administran a animales inmaduros lo que ha hecho necesario tomar precauciones cuando se administre en pediatría. Las fluoroquinolonas han sido asociadas a rupturas de tendones, por lo que se debe discontinuar el tratamiento tan pronto como aparezca dolor tendinoso.

El ciprofloxacino cruza la barrera placentaria y se excreta en la leche materna, no debiendo ser utilizada durante el embarazo o lactancia, clasificándola dentro de la categoría C de riesgo en el embarazo.

Todas las quinolonas incluyendo el ciprofloxacino deben ser utilizadas con precaución en pacientes con enfermedades del sistema nervioso central o enfermedades cerebrovasculares, que son un factor de riesgo para el desarrollo de convulsiones. El ciprofloxacino es excretado en su mayoría por vía renal por lo que debe ser utilizada con precaución en pacientes con insuficiencia renal, en estos sujetos las dosis deben ser reducidas, además debe utilizarse con precaución en sujetos con enfermedades hepáticas, tales como cirrosis.

El ciprofloxacino no se debe administrar en pacientes que presentan deshidratación por la posibilidad de producirse cristaliuria, al concentrarse excesivamente el fármaco en al orina.⁽²⁰⁾

6. Interacciones Medicamentosas.

El ciprofloxacino reduce la depuración hepática de la cafeína y de la teofilina, pudiendo desarrollarse síntomas tóxicos como náuseas, vómito, nerviosismo, ansiedad, taquicardia y convulsiones. Ésta interacción es dosis dependiente, por lo que los sujetos que consumen grandes cantidades de café deben prestar particular atención. El ciprofloxacino disminuye la depuración y aumenta el tiempo de vida media del diacepam. El probenecid disminuye hasta un 50 % la excreción renal de ciprofloxacino, con el correspondiente aumento de las concentraciones plasmáticas del tiempo de vida media de eliminación.⁽²⁰⁾

La absorción de ciprofloxacino se ve afectada por sales de aluminio, calcio, hierro en particular si éstas se administran 1 hora antes que el ciprofloxacino. En



particular, el ciprofloxacino forma complejos muy estables con sales de aluminio que reducen sustancialmente su biodisponibilidad. La ingestión simultánea de leche o productos lácteos disminuye la biodisponibilidad en un 30 a 35 %.⁽²⁰⁾

E. CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (por sus siglas en inglés HPLC).^(17,25-28)

1. Generalidades.

La cromatografía es una técnica desarrollada que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos. Básicamente la cromatografía es un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil gas ó líquido y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un sólido o un líquido.

La cromatografía de líquidos de alta resolución fue desarrollada a mediados de los años setenta y mejorada rápidamente con el desarrollo de los materiales de embalaje de la columna y la conveniencia adicional de detectores en línea. En los últimos años, los nuevos métodos incluyendo la cromatografía líquida de la fase reversa permiten la separación mejorada entre compuestos muy similares.

Hasta hace algunos años era considerada como una técnica principalmente para la investigación biotecnológica, biomédica, y bioquímica así como para la industria farmacéutica, estos campos abarcan solamente cerca del 50% de los usuarios del HPLC. El HPLC es utilizado actualmente por una extensa variedad de campos incluyendo las industrias cosméticas, la energética, la alimenticia, y las industrias ambientales.^(17,25)

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) o cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC por sus siglas en inglés), implica el uso de columnas de un diámetro muy reducido, rellenas de materiales arenosos especiales, donde el tamaño del empaque es no mayor a 30-40 nm. Pese a que las características de la columna la hacen de gran eficacia, esta ofrece una alta resistencia al flujo de la fase móvil, lo cual hace necesario el uso de sistemas de bombeo de alta presión, motivo por el cual se conoce también como HPLC a ésta técnica.

La instrumentación requerida para realizar una CLAR consta de un recipiente que contiene la fase móvil, la cual, consiste en una mezcla de disolventes, un sistema de bombeo de alta presión que impulsa la fase móvil a través de una columna empacada con la fase estacionaria, previo paso por un sistema medidor y controlador de los cambios de presión y una válvula inyectora de la muestra ya sea



manual o automática. A la salida de la columna se requiere de un detector adecuado para el análisis de la muestra, que mide la propiedad del líquido emergente en forma continua y cuya variación se obtiene por medio de un registrador ó en una computadora con un software especializado en HPLC (figura 10).⁽²⁵⁾

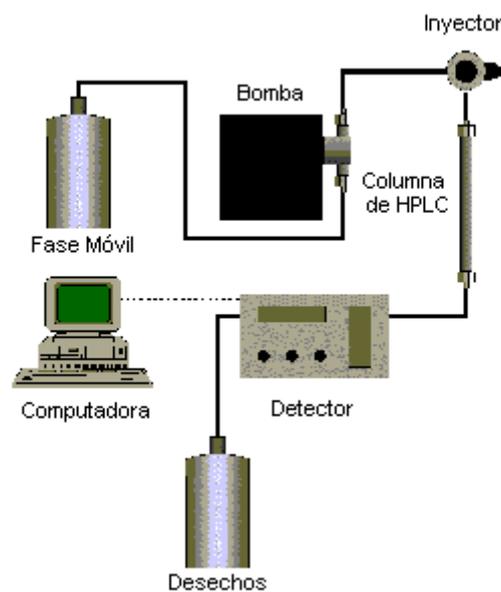


Figura 10. Esquema general del sistema de HPLC. ⁽²⁶⁾

La fase móvil en HPLC se refiere al solvente que es aplicado continuamente a la columna, o fase estacionaria. Ésta actúa como un portador para la solución de la muestra, donde la muestra atraviesa la columna con la fase móvil, en la que los componentes de esa solución emigran según las interacciones no-covalentes del compuesto con la columna. Las interacciones químicas de la fase móvil y de la muestra, con la columna, determinan el grado de migración y de la separación de los componentes contenidos en la muestra.

La columna es una parte importante en la técnica de HPLC, ya que es en ésta donde se lleva a cabo la separación de los componentes de la muestra, generalmente son fabricadas de acero inoxidable, el cual es inerte a la corrosión química y es empacada con la fase estacionaria (sílica, alumina o polimérico). La longitud de las columnas varía entre 10 y 30 cm. y tienen un diámetro interno de 4 a 10mm.

El objetivo de la bomba es asegurar el reparto del flujo preciso, reproducible y de manera constante. Existen dos tipos de bombas: de flujo constante y de presión constante. Además se necesita de una bomba capaz de operar a altas presiones y que sea capaz de impulsar a la fase móvil dentro de la columna con una presión de 600 psi. ^(25,28)



El sistema de detección (detector) es el componente que emite una respuesta debida una propiedad fisicoquímica particular de la muestra y señala posteriormente un pico en el cromatógrama. Hay muchos tipos de detectores que se puedan utilizar con HPLC. Algunos de los detectores más comunes incluyen: Índice de refracción (RI), ultravioleta (UV), fluorescentes (para sustancia que presentan el fenómeno de luminiscencia), radioquímicos, electroquímicos, cercanos-Infrarrojo (Cercano-IR), espectroscopía total (MS), resonancia magnética nuclear (NMR) donde la muestra contiene elementos metálicos, y dispersión ligera (LS).

El sistema de inyección es el dispositivo que permite introducir la muestra en solución sin interrumpir el flujo de solvente a través del sistema. El mecanismo de inyección de la muestra puede ser manual o automático. El puerto de inyección de un HPLC consiste comúnmente de una válvula de inyección, ya que ésta es precisa y es más fácil de utilizar.

La muestra se encuentra contenida dentro de una jeringa y se inyecta en la válvula de la inyección. Una rotación del rotor cierra la válvula y abre el loop para inyectar la muestra en la corriente de la fase móvil. Los volúmenes de la inyección pueden extenderse entre 10µL y 50µL. Además debe de contar con algunas características como: ^(17,28)

- Ser fácil de operar.
- Inerte al ataque químico y soportar altas presiones.
- Preciso en cuanto a la cantidad de muestra introducida en el sistema.
- No debe provocar dilución importante de la solución inyectada.
- En casos especiales operar con altas temperaturas y ser biocompatible.



III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La lesión traumática de médula espinal (LTME) es un evento inesperado que resulta en severas alteraciones sistémicas y metabólicas que pueden exponer a los pacientes a fallas terapéuticas, por la interrupción del sistema nervioso autónomo que resulta en cambios hemodinámicos ^(9, 29). Actualmente se tiene un amplio conocimiento en cuanto a la fisiopatología de la LTME pero relativamente poco conocimiento concerniente a la magnitud del como éste traumatismo afecta la cinética de disposición y metabolismo de los fármacos. ⁽³⁰⁾

A pesar de la evidencia de alteraciones farmacocinéticas en pacientes con LTME, los criterios y estrategias para la optimización farmacológica en este tipo de pacientes está difícilmente basada en principios farmacocinéticos ⁽⁹⁾, debido al hecho de que los efectos de la LTME sobre la farmacocinética no se han estudiado extensamente y los mecanismos fisiológicos involucrados no son completamente comprendidos, aunado al hecho de que las alteraciones fisiológicas en una LTME dependen de la localización, la intensidad y el tiempo de la lesión, factores que son difíciles de caracterizar en estudios clínicos, por la considerable variabilidad interindividual existente en los pacientes con LTME. ^(10,31)

Los modelos experimentales de LTME, se presentan por tanto, como la opción factible para estudiar los cambios farmacocinéticos que ocurren después de una LTME. En Proyecto Camina A.C. , a través de modelos experimentales estandarizados en ratas con LTME en estado agudo y crónico se han descrito varias alteraciones en la disposición de fármacos ⁽⁹⁾, sin embargo en búsqueda de evidenciar de mejor forma estas alteraciones en un modelo experimental más complejo y que puedan extrapolarse con mayor certeza a los cambios fisiológicos en humanos, se plantea un estudio multidisciplinario para la estandarización del modelo experimental de lesión traumática de médula espinal en mono *Rhesus*. ⁽³¹⁾ El presente estudio plantea determinar la farmacocinética de ciprofloxacino en primate no humano de la especie mono *rhesus* con lesión medular experimental provocada por dos métodos diferentes compresión (diferentes intensidades 90% y 100%) y sección completa medular, a nivel torácico 9. El fármaco seleccionado para este estudio es el ciprofloxacino, en virtud a ser un fármaco de primera elección para el tratamiento de infecciones en vías urinarias, padecimiento que se presenta frecuentemente en pacientes con lesión medular.



IV. OBJETIVOS.

1. Objetivo General.

- Evaluar la farmacocinética de ciprofloxacino vía infusión intravenosa en primates no humanos (mono *rhesus*) con lesión medular aguda a nivel T9 provocada por método de sección completa y compresión medular a diferentes intensidades, 90% y 100%..

2. Objetivos Particulares.

- Reproducir la confiabilidad del método analítico para determinar ciprofloxacino en fluido biológico por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución.
- Determinar los parámetros farmacocinéticos (V_d , Cl , $t_{1/2}$, ABC_{0-t} y ABC_{0-inf}) de ciprofloxacino administrado por vía infusión intravenosa en monos *rhesus* sin lesión medular.
- Obtener los parámetros farmacocinéticos (V_d , Cl , $t_{1/2}$, ABC_{0-t} y ABC_{0-inf}) de ciprofloxacino por vía infusión intravenosa después de una lesión medular experimental aguda a nivel de la torácica 9 por el método de sección completa.
- Evaluar los parámetros farmacocinéticos (V_d , Cl , $t_{1/2}$, ABC_{0-t} y ABC_{0-inf}) de ciprofloxacino por vía infusión intravenosa después de una lesión medular experimental aguda a nivel de la torácica 9 por el método de compresión a diferentes intensidades, 90% y 100%.



V. HIPÓTESIS.

Una lesión medular provocada por el método de compresión, o sección completa (corte) en el mismo nivel (T9) provocará cambios farmacocinéticos de ciprofloxacino; sin embargo, no existirán diferencias significativas en la farmacocinética de ciprofloxacino después de la lesión medular con respecto al tipo de lesión.



VI. DISEÑO EXPERIMENTAL.

1. CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

Actitud del Investigador	Época de Recolección de Información	Cinética de Estudio	Cantidad de Poblaciones
Experimental	Actual con Seguimiento	Longitudinal	Comparativo

2. POBLACIÓN OBJETIVO.

- Mono *rhesus macho*

Población para Estudiar.

- Mono *rhesus macho con lesión medular*

a. Criterios de Inclusión.

Especie, género, alimentación, nivel de lesión,

b. Criterios de Exclusión.

Enfermedad, reacciones o eventos adversos posteriores a la administración del medicamento.

c. Criterios de Eliminación.

Muerte, depresión



3. METODOLOGÍA. ⁽²²⁾

3.1. Material:

- Vasos de precipitado de distintas capacidades.
- Pipetas volumétricas de 1 mL
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
- Matraces volumétricos de 25, 100, 200, y 1000 mL.
- Probetas graduadas de 500 y 1000 mL
- Pipetas semiautomáticas Eppendorf
- Tubos Eppendorf de 1.5 mL
- Papel glassin
- Espátula de acero inoxidable
- Frascos de plástico de 20 mL
- Jeringas de 10 mL
- Tubos de ensaye de 13x18 cm
- Gradilla
- Agitador magnético.

3.2. Reactivos.

- Agua grado HPLC
- Acetonitrilo J.T. Baker Lote Y46C726M
- Ciprofloxacino clorhidrato estándar secundario Lote 6700047004
- Enrofloxacin estándar secundario lote 04026017
- Trietanolamina Productos Químicos Monterrey lote 005136
- Ácido perclórico Baker Analizad, S/L.
- Metanol J.T. Baker grado HPLC, varios lotes.
- Ácido fosfórico 85% grado HPLC, Fisher Scientific lote 872923.
- Heparina varios lotes
- Tiras indicadoras de pH, Merck Lote OC317128
- Plasma de primates no humanos antes y después de la intervención.

3.3. Equipo e instrumentación

- Balanza analítica Ohaus
- Bomba para vacío
- Equipo de filtración Millipore
- Membranas de filtración Millipore con tamaño de poro de 0.45 μ
- Parrilla de agitación (Vortex)
- Centrífuga Fisher Scientific Marathon 26KM.
- Equipo desionizador de agua System MILLI-Q Water.
- Cromatógrafo de líquidos Waters.



- Detector waters 486
- Bomba Waters 510
- Inyector manual.
- Columna Zorbax SB-C18 4.6x75mm 3.5micras.
- Sistema de cómputo Acer modelo AcerMate 466d
- Catéter Fogarty Edwards para embolectomía de doble lumen calibre 6 FR, longitud 80cm con capacidad de inflado de balón de 1.4mL de líquido.
- Catéres de polietileno del No. 20 y 22
- Equipo de venoclisis.
- Cronómetro.
- Agitador IKA MS 3 digital.

3.4. Programas Computacionales.

- Software Maxima 820
- Microsoft Windows Excel 2000
- Software Winnolin 2.1.

4. Desarrollo Experimental.

4.1. Manejo de primates sometidos a investigación.

4.1.1. Antes del tratamiento Quirúrgico.

Los primates no humanos previamente adiestrados para el estudio, con un ayuno de 12 horas, fueron colocados en una silla de sujeción para llevar a cabo el estudio farmacocinético. Se canalizaron, para la toma de muestras y la administración del fármaco, una de las venas de cada una de las extremidades superiores, usando un catéter de polietileno del No. 20. El ciprofloxacino fué administrado por infusión intravenosa en una dosis de 10mg/Kg de peso, por un intervalo de 30 min. Usando un equipo de venoclisis.

Se tomaron muestras de 1.0 a 1.5mL de sangre antes de la administración del medicamento y a los 7.5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480, y 600 minutos después de la administración. Las muestras sanguíneas fueron recibidas en tubos eppendorf de 1.5 mL heparinizados previamente, para separar el plasma por centrifugación y una vez obtenido éste, se mantuvo en congelación a -20°C hasta el día de su análisis para la cuantificación del fármaco.



4.1.2. Tratamiento Quirúrgico.

4.1.2.1. Anestesia

Se canaliza a través de la vena cefálica para la toma de muestras y administración de fármacos utilizando un catéter de polietileno del No. 22.

Para el procedimiento quirúrgico se utilizó anestesia Tiletamina- Zolacepam (Zoletil®) en una dosificación de 4mg/Kg, por vía intramuscular como inductor para la intubación endotraqueal y manteniendo con Isoflurano al 2%. Monitoreando sus constantes fisiológicas a través de un monitor cardíaco.

4.1.2.2. Método de lesión medular

Mediante técnica estéril, se realizó una incisión longitudinal en piel a nivel de T-11, se separan músculos paravertebrales y se retira la apófisis espinosa, se realiza una laminectomía hasta exponer la médula espinal íntegra, se introduce un cateter fogarty 6-french con la ayuda de una guía rígida en sentido cefálico a través del espacio epidural, de tal manera que el globo desinflado quede ubicado en posición dorso-central en T-9. El globo se infla de manera súbita durante 5 min con un volumen de solución salina para producir una compresión medular severa (90-100%). El volumen se determina previamente midiendo el diámetro y la altura antero-posterior del canal vertebral a través de una tomografía. Se retira el volumen de solución salina y el catéter del espacio epidural, finalmente la incisión quirúrgica se cierra por planos. Se mantiene monitoreado al animal hasta su recuperación de la anestesia.

La lesión "**corte limpio con bisturí**" Se puede producir con una sección completa. La laceración consiste en extraer un fragmento de médula espinal. De T9 a T10 de 5 mm, con una limpieza del conducto raquídeo para no dejar ninguna raíz nerviosa, Se hace una valoración hemodinámica durante los 5 minutos siguientes; la incisión quirúrgica se cierra por planos. Es el modelo que más se ha empleado para investigación con trasplantes ya que la cavidad creada da cabida y retención a los tejidos trasplantados. Esta última lesión es muy raro que ocurra en humanos.

4.1.2.3. Cuidados posquirúrgicos

Después de producir la lesión, los primates se colocan en jaulas individuales en un ambiente de temperatura y humedad controlada El intestino y la vejiga se manejan con expresión manual 3 veces por día hasta la recuperación del automatismo. Se les



proporcionó alimento en forma de pellets y fruta 3 veces al día, el agua se maneja *ad limitum*.

4.2. Estudio Farmacocinético Posterior a la Lesión.

24 horas posteriores a la intervención quirúrgica, los animales se colocaron en una silla de contención para el estudio, y se procede a realizar el estudio farmacocinético. Se canalizaron para la toma de muestra y la administración del fármaco de la forma descrita en el punto 4.1.1 que antes de la lesión tomando los cuidados necesarios debido a su estado físico. Nuevamente se administró ciprofloxacino por infusión intravenosa en una dosis de 10mg/Kg de peso, por 30 minutos, a través de un equipo de venoclisis. Se tomaron muestras de 1.0 a 1.5 mL de sangre, antes de la administración del fármaco y a los 7.5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480, y 600 minutos después de la administración. Las muestras fueron recibidas en los tubos eppendorf heparinizados y una vez separado el plasma éste se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su análisis. Este mismo estudio se realizó a los 15 días y a los 2 meses de haber ocurrido la lesión.

5. Método Analítico.

Solución de Enrofloxacin (estándar interno).

Se midieron 50 μL de enrofloxacin (Enroxil $\text{\textcircled{R}}$ solución inyectable al 5 %) y se transfirió a un matraz volumétrico de 200 mL, se aforó con agua grado HPLC. Esta solución tiene una concentración de 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Solución de Ácido perclórico al 6.0%.

Se midió 4.1mL de ácido perclórico y se llevó a un matraz de 50mL diluyendo hasta el aforo con agua grado HPLC.

6. Sistema Cromatográfico.

- Columna Zorbax SB-C18 4.6 x 75 mm
- Longitud de onda 278nm
- Velocidad de flujo 1.6 mL/min.
- Volumen de inyección de 20 μL .



Fase móvil.

Se midieron 1.7 mL de ácido fosfórico, llevando a un matraz volumétrico de 1000mL, aforando con agua HPLC, ajustando el pH a 3 con trietanolamina. Ésta solución tuvo una concentración de 0.025 M.

La fase móvil está formada por una solución de ácido fosfórico 0.025M pH 3, y acetonitrilo grado HPLC en una proporción de 87:13 v/v. Ésta fase fué filtrada a través de una membrana Millipore al vacío, y sometida a un sistema ultrasónico durante 5 minutos para eliminar el gas que pudiera estar contenido en ella.

7. Preparación de la curva de calibración.

Se pesaron aproximadamente 0.048 g de ciprofloxacino y se aforó con fase móvil en un matraz volumétrico de 100 mL, de ésta solución, se tomaron 8 mL y se aforaron con fase móvil en un matraz volumétrico de 100 mL. De ésta segunda solución, se tomaron 500 µL, 1, 2, 4, 8, y 16 mL respectivamente y se colocó cada muestra en matraces volumétricos de 25 mL y se aforaron con fase móvil; éstas soluciones tuvieron una concentración de 0.075, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, y 2.4 µg /mL.

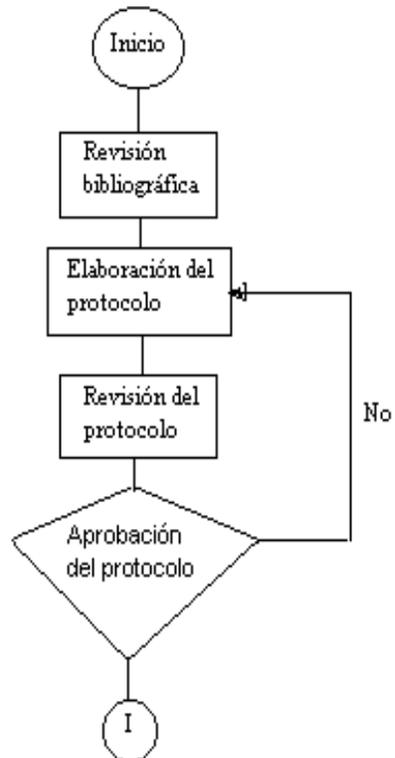
Se tomaron alícuotas de 50 µL de cada muestra preparada de la curva de calibración de ciprofloxacino y se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 mL previamente etiquetados para cada concentración, a cada tubo se le agregó 20 µL de la solución de enrofloxacin (estándar interno), 100 µL de plasma de primate no humano, y 330 µL de solución de ácido perclórico al 6 %; esta preparación se realizó por triplicado. Una vez agregado cada una de estas soluciones, se agitó a 10000 rpm durante 3 minutos en un agitador IKA MS 3 digital. En seguida cada tubo fué centrifugado por 10 minutos a una velocidad de 10000rpm y se procedió a inyectar las muestras en el cromatógrafo de líquidos.

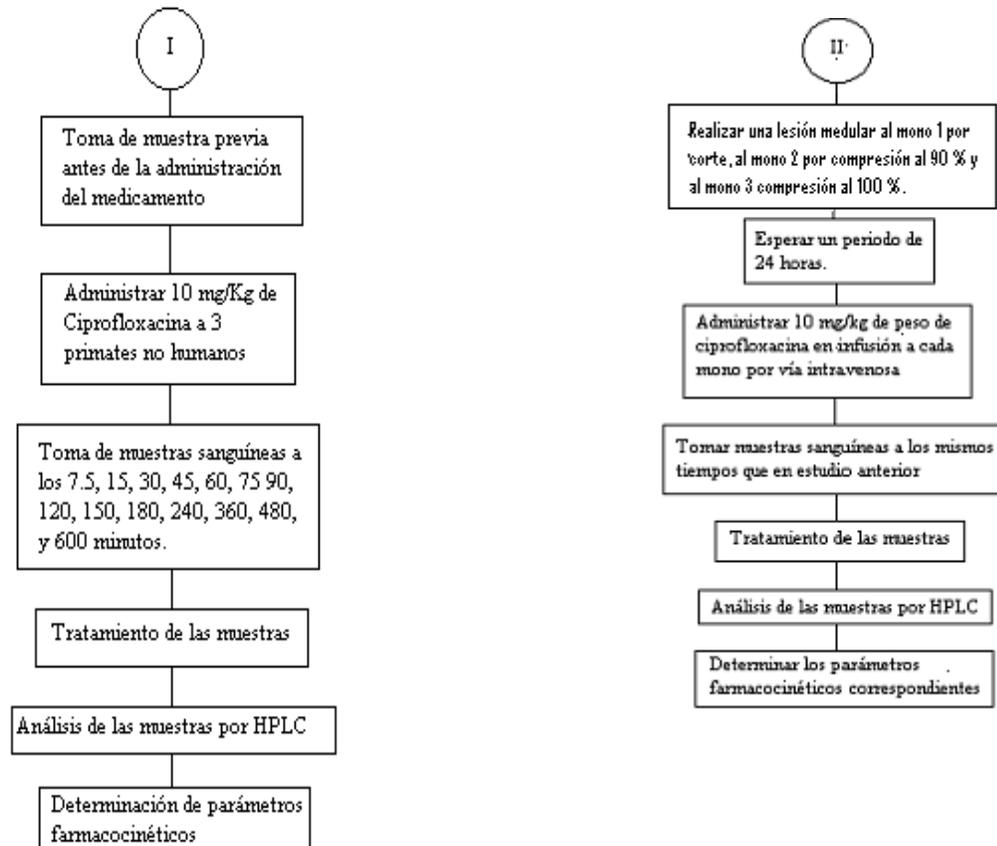
8. Tratamiento de las muestras.

Una vez descongelado el plasma se procedió a analizar las muestras de la manera siguiente: se tomaron 100 µL de plasma de cada tiempo y se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL etiquetados para cada tiempo de muestreo; se agregó 20 µL de solución de enrofloxacin (estándar interno) y 380 µL de solución de ácido perclórico al 6 %, se agitaron durante 3 minutos en un agitador IKA MS 3 digital, posteriormente se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos para separar las fases. A continuación se inyectó cada muestra del sobrenadante en el sistema de cromatografía de líquidos bajo las condiciones antes mencionadas.



9. Diagrama de flujo.







VII. RESULTADOS.

1. Curva Estándar.

La curva de calibración de ciprofloxacino se realizó en plasma de primate no humano la cual constó de seis puntos a partir de soluciones preparadas de ciprofloxacino en las siguientes concentraciones: 0.075, 0.15, 0.3, 0.6, 1.2, y 2.4 $\mu\text{g/mL}$, un estándar interno fue adicionado (solución de Enrofloxacin (Enroxil[®])) a una concentración de 0.5 $\mu\text{g/mL}$ para todas las muestras de la curva (cuadro2).

$\mu\text{g/mL}$	n1	n2	n3	Promedio
0.075	0.19918425	0.1966838	0.18610514	0.19399106
0.15	0.36679166	0.3566093	0.37610001	0.36650032
0.3	0.710252	0.68811232	0.71009867	0.70282099
0.6	1.42183839	1.37375589	1.42901479	1.40820302
1.2	2.81218617	2.75777534	2.49017466	2.68671206
2.4	5.65873845	5.62546089	5.81627427	5.70015787

Cuadro 2. Datos de curva de calibración de ciprofloxacino en plasma de primate no humano con sus respectivos promedios.

En el siguiente gráfico se aprecia el comportamiento lineal de la curva de calibración promedio de ciprofloxacino, en donde se demuestra que la respuesta a las lecturas (relación de alturas) es proporcional a la concentración de ciprofloxacino.

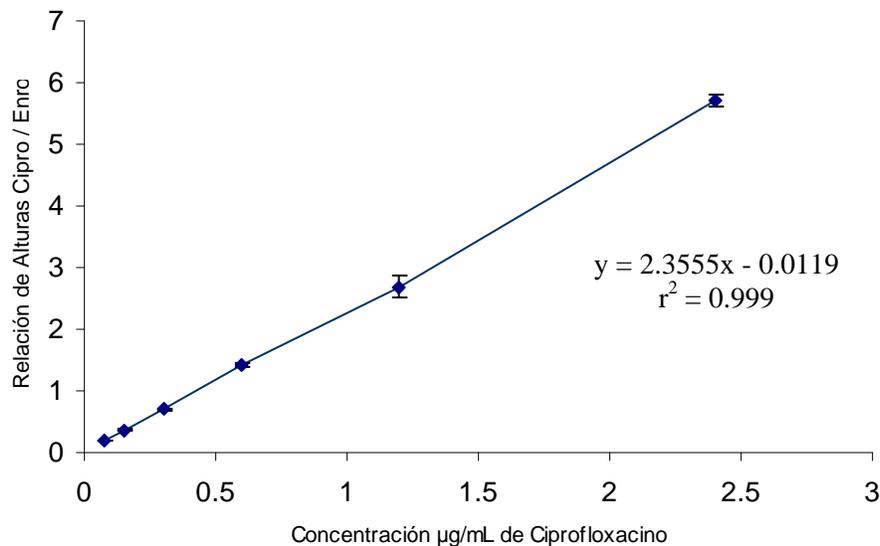


Gráfico 1. Curva de calibración promedio de ciprofloxacino en plasma de primate no humano que obedece a la ecuación de la recta $y = mx + b$.



a. Precisión y Exactitud.

La determinación de la precisión y exactitud fue evaluada en tres niveles de concentración incluidos éstos dentro del rango lineal de concentración previamente establecido, determinándose la relación de alturas del pico cromatográfico de ciprofloxacino entre el pico cromatográfico de la enrofloxacinina para cada nivel de concentración. La precisión y exactitud fue determinada como intradía (análisis por quintuplicado bajo las mismas condiciones de análisis en un día) e interdías (análisis por triplicado bajo las mismas condiciones de análisis en tres días diferentes de análisis).

En el cuadro 3 se presenta el coeficiente de variación y el por ciento del valor nominal recuperado en cada nivel de concentración, observándose que en todos los niveles de concentración analizados no muestran una variación mayor a lo establecido en el criterio de aceptación (cuadro 3).^(32,33)

Nivel de Concentración (µg/mL)	Intradía		Interdía	
	Precisión % CV n=5	Exactitud % Recuperado n=5	Precisión % CV n=9	Exactitud % Recuperado n=9
Bajo 0.1125	3.26	94.35 +/- 3.08	9.09	106.93 +/- 9.91
Medio 0.45	1.11	97.03 +/- 1.07	5.42	103.06 +/- 5.59
Alto 1.8	0.29	99.43 +/- 0.29	3.46	103.16 +/- 2.00

Cuadro 3. Precisión y exactitud de la curva de calibración de ciprofloxacino en plasma de primate no humano.

De acuerdo a lo presentado en el cuadro 3 se puede establecer que el método utilizado para la cuantificación de ciprofloxacino es preciso y exacto.^(32,33)

b. Selectividad del Método.

La figura 11 muestra el cromatograma de una solución blanco donde se puede apreciar que no existe ninguna interferencia proveniente de productos endógenos del plasma de mono *Rhesus* en los tiempos de retención esperados para la enrofloxacinina y ciprofloxacino (4 min y 5.9 min, respectivamente). El análisis de 6 muestras de plasma de mono de origen diferente, evidenciaron un comportamiento similar.

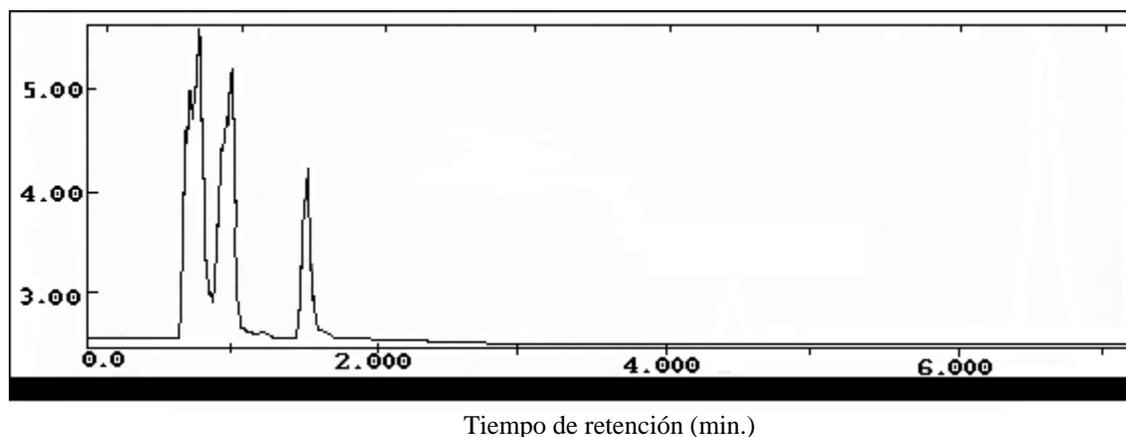


Fig. 11. Cromatograma de una solución blanco preparada con plasma de mono.

Se puede asegurar que el método empleado para la cuantificación de ciprofloxacino tiene resolución adecuada para los compuestos de interés, al observar que los tiempos de retención para ciprofloxacino y enrofloxacina (estándar interno) están a una distancia de 1.9min, obteniendo un tiempo de retención de 4.0min para el caso de la enrofloxacina y de 5.9 min para la ciprofloxacino (figura 12).

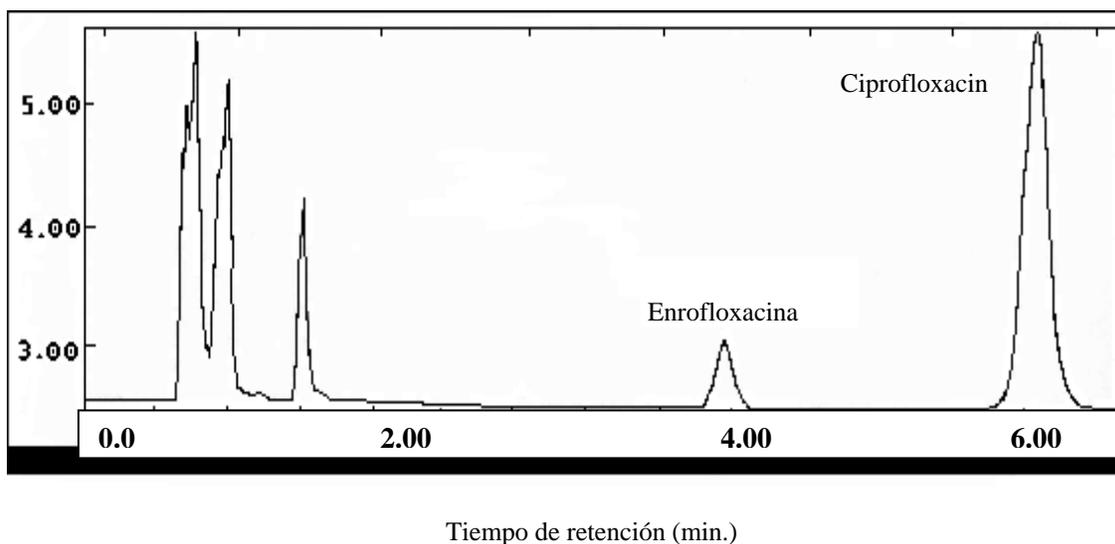


Fig. 12. Cromatograma de una solución de ciprofloxacino (2.4 µg/mL) y el estándar interno Enrofloxacina (0.5µg/mL).



2. Cursos Temporales de Ciprofloxacino en Monos *Rhesus* Macho Previo a una LTME (Lesión Traumática de Médula Espinal).

En el gráfico 2 se presentan los perfiles farmacocinéticos de ciprofloxacino por infusión intravenosa (10 mg/Kg) en tres monos *Rhesus* machos sin tratamiento quirúrgico, en tanto el gráfico 3 el promedio de los mismos.

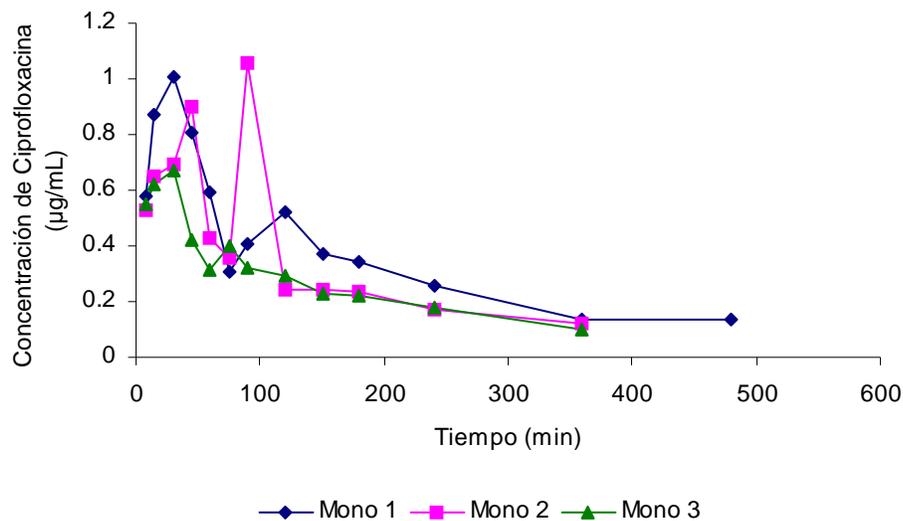


Gráfico 2. Perfil farmacocinético en tres monos *Rhesus* sin lesión traumática de médula espinal (LTME) después de una administración intravenosa de 10mg/Kg de ciprofloxacino.

En el cuadro 4 se presentan los parámetros farmacocinético promedio obtenidos en tres monos *Rhesus* macho sin LTME, después de una administración intravenosa de ciprofloxacino de 10mg/Kg.

$t_{1/2}$ (min)	ABC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	ABC_{0-INF} ($(\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL})$)	V_d (L/Kg)	Cl (L/Kg*min)
176.8232 ± 19.4831	121.7287 ± 30.5875	151.7597 ± 36.6973	17.2492 ± 2.9948	0.0685 ± 0.0169

Cuadro 4. Promedio de los parámetros farmacocinéticos de tres monos *Rhesus* antes de realizarse una lesión medular experimental.

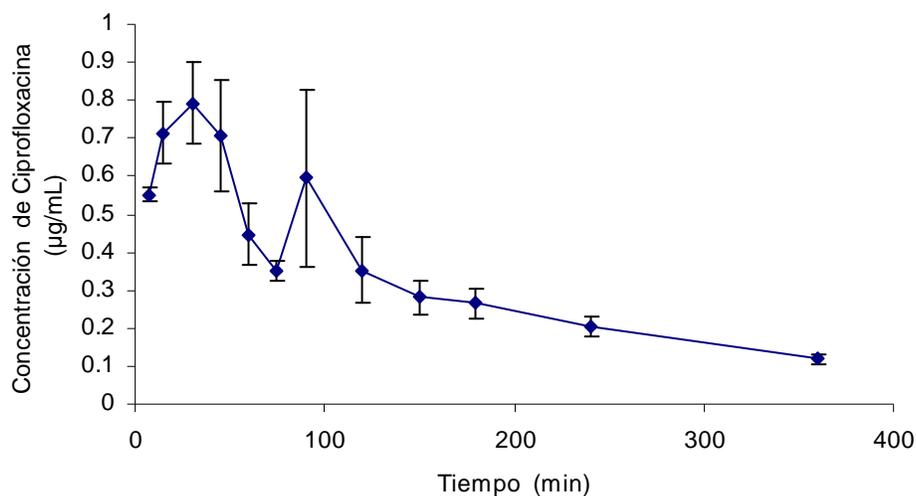


Grafico 3. Promedio de perfiles farmacocinéticos de ciprofloxacino vs tiempo después de una dosis vía intravenosa de 10 mg/Kg en tres monos *rhesus* sin LTME experimental \pm error estándar (ee).

3. Perfiles Farmacocinéticos de Ciprofloxacino en Monos *Rhesus* Macho 24h después de una LTME

Los siguientes resultados presentan los cursos temporales de ciprofloxacino por infusión intravenosa (10 mg/Kg) en tres monos *rhesus* macho antes y después de ser sometidos a una LTME experimental por el método de compresión y sección medular completa. Para observar el efecto que podría presentarse por el método de lesión y el tiempo transcurrido de la misma (24 h, 15 días y 2 meses después de la lesión), los resultados se muestran de forma individual para cada caso. En el mono 1 se realizó una lesión por corte (sección completa), siguiendo el procedimiento de Gopal Das ⁽¹¹⁾. En el mono 2, se realizó una lesión por compresión medular ⁽¹¹⁾ al 90 %, y en el mono 3 se realizó una lesión por compresión ⁽¹¹⁾ al 100 %, todas las lesiones realizadas a nivel torácico 9.

3.1. LTME por Corte (Sección Completa)¹¹

Los perfiles plasmáticos de ciprofloxacino en mono *Rhesus* 1, después de una administración intravenosa de ciprofloxacino (10 mg/Kg) en las cuatro etapas del estudio: sin LTME, a las 24 horas, 15 días y 2 meses de posterior a la lesión medular experimental se presentan en el gráfico 4, en tanto sus respectivos parámetros farmacocinéticos en el cuadro 5.



La lesión medular por sección completa o corte incrementó considerablemente las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino a las 24 horas posterior a la lesión influyendo directamente sobre el valor del ABC obtenido con respecto al grupo control, como puede observarse en el cuadro 5.

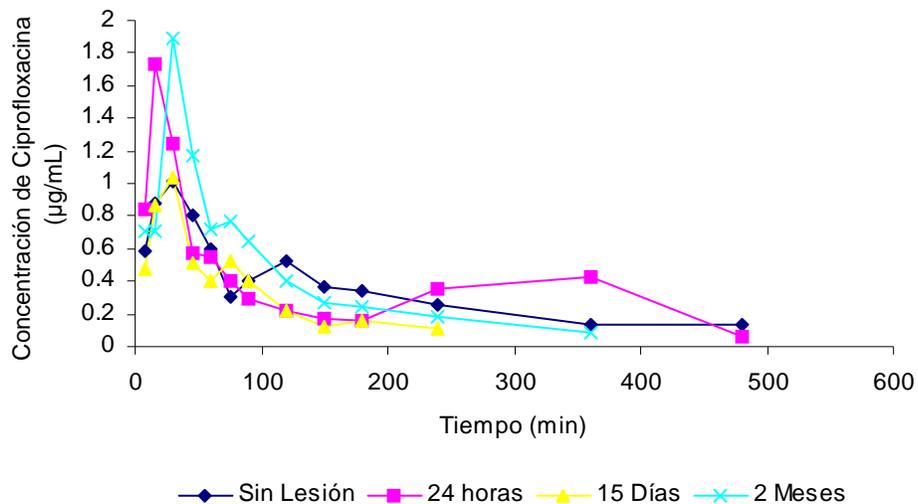


Gráfico 4. Perfiles farmacocinéticos de ciprofloxacino por infusión intravenosa (10 mg/Kg) en mono 1 con LTME por sección completa en diferentes etapas del estudio.

Etapa	$t_{1/2}$ (min)	ABC_{0-1} ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	ABC_{0-INF} ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$)	V_d (L/Kg)	Cl (L/Kg*min)
Sin Lesión	180.8693	153.8163	188.5853	13.8367	0.053
24 Horas	404.7663	191.8963	268.9286	21.7141	0.0372
15 Días	68.8412	79.8572	91.0436	10.9087	0.1098
2 Meses	113.9407	148.8353	162.717	10.1023	0.0615

Cuadro 5. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino (10 mg/Kg) vía intravenosa del mono 1 (LTME por sección completa) en cuatro estadios de tiempo.



3.2. LTME por Compresión a Nivel T9 (90 %) ¹¹

En el gráfico 5, se exhiben los cursos temporales de ciprofloxacino por infusión intravenosa (10 mg/Kg) en mono 2 en las diferentes etapas del estudio: 24 horas, 15 días, y 2 meses posterior a la LTME por compresión a nivel de la vértebra torácica T9. La lesión medular por compresión con una intensidad de 90 % aparentemente indujo una disminución en la disposición del fármaco durante el choque espinal (a las 24 horas), trascurrido el tiempo se puede observar un ligero recobro en la biodisponibilidad de la ciprofloxacino (2 meses) comparada con el grupo control. Los parámetros farmacocinéticos de esta etapa del estudio se presentan en el cuadro 6.

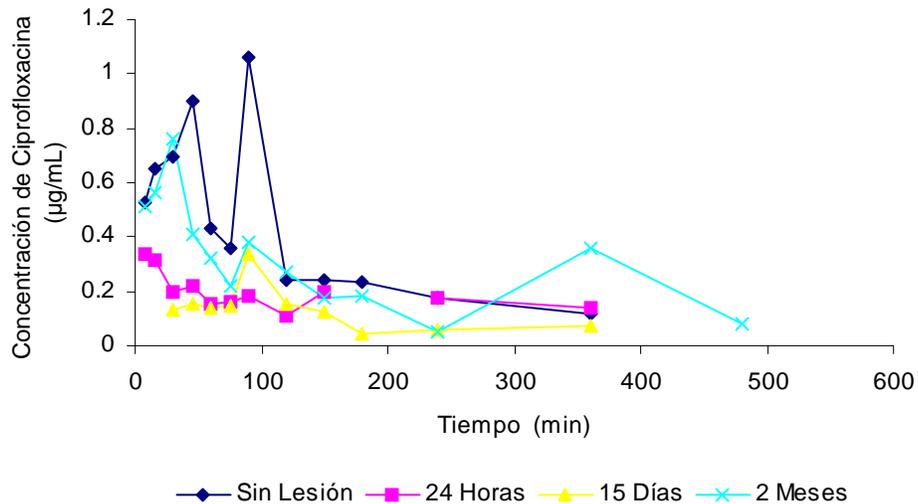


Gráfico 5. Perfil farmacocinético de ciprofloxacino en mono 2 (LTME por compresión al 90 %) en diferentes etapas del estudio después de una administración por infusión intravenosa (10 mg/Kg)

<i>Etapa</i>	<i>t</i> _{1/2} (min)	<i>ABC</i> _{0-t} (µg*min/mL)	<i>ABC</i> _{0-INF} (µg*min/mL)	<i>Vd</i> (L/Kg)	<i>Cl</i> (L/Kg*min)
Sin Lesión	193.9656	118.4674	151.5019	18.4706	0.066
24 Horas	417.908	62.9125	147.2672	40.9401	0.0679
15 Días	294.216	37.2214	68.0307	62.393	0.147
2 Meses	216.981	118.8087	145.1005	21.5738	0.0689

Cuadro 6. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino en mono 2 (LTME por compresión al 90 %) a diferentes etapas del estudio después de una administración por infusión intravenosa (10 mg/Kg).



3.3. LTME por Compresión a Nivel T9 (100 %) ¹¹

El gráfico 6 muestra los perfiles farmacocinéticos de ciprofloxacino (10 mg/Kg) administrada por infusión intravenosa en el mono 3 antes y después de una lesión medular por compresión al 100 % a nivel T9, se puede observar que las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacino se incrementan 24 h posterior a la lesión (de forma similar al mono con lesión medular por sección completa) y disminuyen considerablemente 2 meses posterior a la lesión, los parámetros farmacocinéticos obtenidos para este caso se presentan en el cuadro 7.

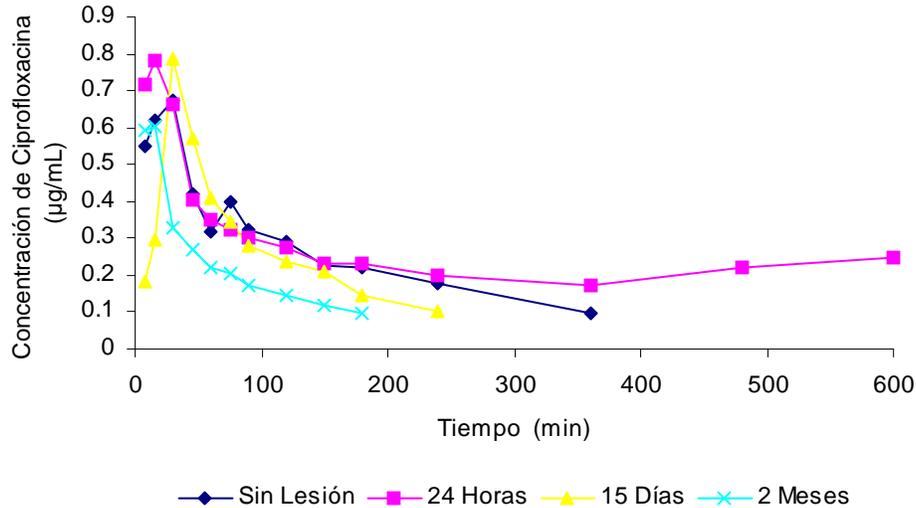


Gráfico 6. Perfil farmacocinético de ciprofloxacino en mono 3 (LTME por compresión 100 %) a diferentes etapas del estudio posterior a una administración por infusión intravenosa (10 mg/Kg).

<i>Etapa</i>	<i>t</i> _{1/2} (<i>min</i>)	<i>ABC</i> _{0-t} (<i>µg</i> * <i>min</i> / <i>mL</i>)	<i>ABC</i> _{0-INF} (<i>µg</i> * <i>min</i> / <i>mL</i>)	<i>Vd</i> (<i>L</i> / <i>Kg</i>)	<i>Cl</i> (<i>L</i> / <i>Kg</i> * <i>min</i>)
Sin Lesión	155.6347	92.9026	115.192	19.4405	0.0866
24 Horas	454.6954	101.1255	214.6112	30.5663	0.0466
15 Días	91.6852	65.853	79.2126	16.6986	0.1262
2 Meses	94.8469	39.7242	52.6455	25.9968	0.1967

Cuadro 7. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino por infusión intravenosa (10 mg/Kg) en mono 3 (LTME por compresión al 100%) a diferentes etapas del estudio.



VIII. ANALISIS DE RESULTADOS.

Cuando la médula resulta dañada de forma permanente, la parte del cuerpo que queda por encima de la zona lesionada funciona con normalidad pero la zona dañada sufre la interrupción de las órdenes del SNC y la parte situada por debajo conserva su estructura intacta, pero no podrá emitir ni recibir ninguna orden al y del cerebro por la interrupción producida. Como consecuencia de ello se alteran funciones motoras, sensitivas y vegetativas.⁽³⁴⁾

Además de las alteraciones antes mencionadas existen de igual manera complicaciones como son las infecciones de vías urinarias, de manera que es necesaria la administración de antibióticos como el ciprofloxacino, un antimicrobiano del grupo de las quinolonas, el cual es un agente eficaz contra bacterias grampositivas y gramnegativas.^(18, 21)

Para evidenciar posibles alteraciones en la disposición de fármacos en presencia de una LTME a través de estudios sistematizados, se han presentado varios modelos de lesión medular experimental en rata,^(10, 11, 14) con el objetivo de establecer con mayor seguridad las posibles alteraciones farmacocinéticas atribuidas a una LTME que de alguna manera sugieran considerar la posibilidad de ajustar la dosis para obtener el efecto terapéutico deseado, en este trabajo se presenta parte del proyecto del desarrollo de un modelo experimental de lesión medular usando monos *Rhesus* macho.⁽³⁵⁾

Indagando el efecto que podría presentarse de acuerdo a la intensidad de la lesión (90% y 100%) de compresión de la médula y contrastando con una lesión obtenida por sección completa de la médula, en diferentes estadios de tiempo sobre la farmacocinética de ciprofloxacino administrada por vía intravenosa a una dosis de 10mg/Kg.

El método bioanalítico empleado para la determinación de ciprofloxacino en plasma de primate no humano, resultó ser sencillo y simple tanto en la extracción como en la cuantificación del analito por la técnica de CLAR, donde se obtuvo un menor tiempo en el tratamiento de cada muestra en comparación con otros métodos de extracción. Comprobando que el método es confiable de acuerdo a los resultados obtenidos en la validación del sistema y del método, ya que cumplen con los límites establecidos para una validación,⁽³³⁾ comprobando que es preciso, exacto y selectivo para la cuantificación de ciprofloxacino dentro de los límites reportados en plasma humano.



Antes de iniciar los estudios farmacocinéticos todos los animales presentaron una actividad motora normal, en tanto después de la lesión medular obtenida por cualquiera de los métodos antes mencionados, se presentó una paraplejia flácida completa, de igual forma que lo reportado para ratas ^(9-11, 14), consecuentemente los resultados obtenidos posterior a la lesión medular son atribuidos a la presencia de la condición patológica.

Las curvas de disponibilidad plasmática de ciprofloxacino obtenidas, en los tres monos *Rhesus* sin tratamiento quirúrgico tras una administración por infusión intravenosa (gráfico 2) mostraron una caída aparentemente bicompartamental con un alto volumen de distribución (Vd) de 17.2492 ± 2.9948 L/Kg valor que no contradice lo reportado para las fluoroquinolonas, las cuales se distribuyen bien hacia la totalidad de los tejidos y los líquidos corporales ^(18, 24) una depuración (CL) de 0.0685 ± 0.0169 L/Kg*min y una vida media de eliminación de 176.8232 ± 19.4831 min, no obstante la variabilidad en los parámetros farmacocinéticos obtenidos en los tres animales, éstos no difieren de lo reportado en otros estudios. ^(21, 22, 36)

Durante el choque espinal se llegan a presentar alteraciones metabólicas y sistémicas significativas que pueden producir cambios en la disposición de los fármacos, dichos cambios además dependen de otras variables tales como las características de la lesión (intensidad, nivel y el tiempo transcurrido), las propiedades farmacológicas del medicamento y la vía de administración. Se ha reportado que en el caso de medicamentos que son administrados por vía intravenosa sufren alteraciones significativas en la distribución y eliminación, éstos procesos son asociados con el volumen de distribución y el aclaramiento renal, dando como resultado cambios en la disponibilidad de los medicamentos en el organismo. ^(37, 38)

Esto es particularmente interesante ya que durante el choque espinal los pacientes reciben una serie de medicamentos por vía intravenosa que incluyen agentes neuroprotectores (metilprednisolona), antibióticos (ciprofloxacino), anticoagulantes, agentes vasoactivos, y vasodilatadores. Así como aquellos fármacos para disminuir la glucosa y los niveles de lípidos, etc. con el objetivo de buscar la supervivencia y prevenir toda pérdida adicional de las funciones neurológicas. ^(29, 37, 38)

En la etapa conocida como choque medular (24 horas después de la lesión), se presenta una disminución en el flujo sanguíneo y alteraciones cardiovasculares, que resultan en una redistribución de flujo sanguíneo. Tratando de compensar el flujo necesario que se requiere en órganos vitales como el corazón y el cerebro para evitar la mortalidad en la etapa de choque medular, el flujo sanguíneo a éstos órganos se ve aumentado, en tanto se reporta una reducción del flujo hacia órganos no vitales (hígado, riñón y el sistema gastrointestinal)



lo que puede llevar a cambios significativos en la distribución y eliminación de los fármacos. ^(9, 39)

Lo anterior explica de forma muy general los cambios en los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacino después de una lesión medular en cualquiera de los métodos empleados para realizar la lesión y en los estadios de tiempo estudiados en nuestro estudio, (cuadros 3-5), sin embargo considerando que la administración del fármaco fue realizada por medio de una infusión intravenosa, los procesos de distribución y eliminación del fármaco serán analizados en los siguientes párrafos.

24 horas después de una LTME provocada por sección completa o compresión medular (90%-100%), aparentemente provocó alteraciones en la disposición del fármaco, al observarse un decremento en la depuración y volumen de distribución de ciprofloxacino reflejado por un incremento considerable en la vida media de eliminación del fármaco y la cantidad del mismo en el torrente sanguíneo.

La distribución de los fármacos es el proceso por el cual un compuesto deja en forma reversible el torrente sanguíneo y entra al tejido intersticial (líquido extracelular), a las células de los tejidos o ambos, este proceso de distribución depende no solo del flujo sanguíneo, también depende de la penetrabilidad capilar, el grado de unión a proteínas, así como de la hidrofobicidad relativa del fármaco ^(19, 22, 23). El volumen de distribución normalmente alto reportado para el ciprofloxacino y su baja unión a proteínas, nos está indicando que el fármaco es capaz de distribuirse en líquidos extracelulares del organismo ^(18, 21). La LTME en su fase aguda (24 horas posterior a la lesión), provocó un incremento en el volumen de distribución del fármaco del 56%, 121 % y 57 % para la lesión provocada por la sección completa de la médula o la compresión de la misma al 90 y 100% respectivamente y comparando contra su valor obtenido antes de la lesión, como puede observarse en la gráfico 7. Con base al conocimiento de la distribución del fármaco en condiciones normales, el incremento en el volumen de distribución está sugiriendo una posible mayor distribución del fármaco hacia líquidos extravasculares, sugerencia que no estaría contradiciendo lo reportado para otros antibióticos tales como la amikacina y gentamicina, donde la administración de éstos fármacos posterior a una LTME provocó un significativo incremento en sus volúmenes de distribución explicados por la alteración en el tono venomotor y una erosión de la masa muscular que pudo contribuir al incremento del volumen de fluido extracelular ⁽³⁹⁻⁴²⁾ aunado a las alteraciones en flujo sanguíneo que se presentan posteriores a una LTME ^(9, 39) y que contribuyen significativamente a la distribución del fármaco.

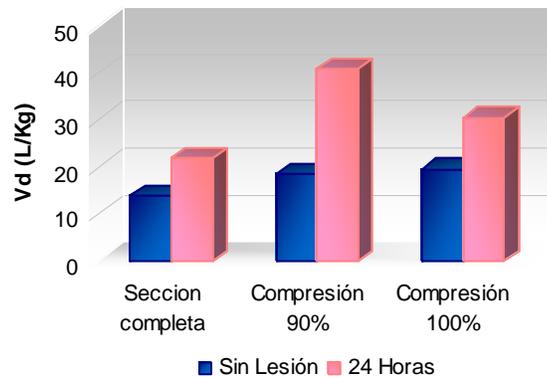


Gráfico 7. Volumen de distribución (Vd) de ciprofloxacino, en monos *Rhesus* macho, con diferentes tratamientos quirúrgicos: por sección completa; por compresión al 90 % y 100 %, a dos estadios de tiempo sin lesión y 24 horas después de una lesión medular.

El volumen de distribución alto encontrado tanto en los animales lesionados por sección y compresión medular, en la fase aguda del estudio tiene una gran influencia sobre la vida media del fármaco, considerando que la eliminación de un fármaco depende de la cantidad del fármaco que alcanza el hígado o riñón por unidad de tiempo.⁽¹⁸⁾ Donde la llegada del compuesto a el órgano de eliminación estará dependiendo no solamente del flujo sanguíneo (el cual está disminuido en una LMTE)^(9, 14, 29), también de su fracción en el plasma. Por lo tanto el Vd alto de ciprofloxacino posterior a una LTME comparado con su valor antes de la lesión, está sugiriendo que posiblemente una cantidad considerable del fármaco se encuentra en el espacio extraplasmático y se halla fuera del alcance de los mecanismos de excreción del riñón y por lo tanto repercute también en el incremento en el valor de tiempo de vida media de eliminación obtenido posterior a una LTME, como puede observarse en el gráfico 8, donde para la lesión por sección completa la vida media se prolonga en un 123 % de su valor en el estudio sin lesión.

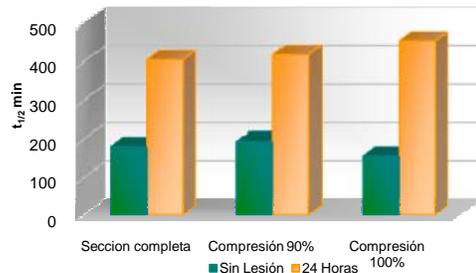


Gráfico 8. Tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de ciprofloxacino, en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a dos estadios de tiempo.

Conociendo que la remoción de un fármaco del organismo se puede lograr por diferentes vías siendo una de las más importantes la renal, y si ésta es la principal para la depuración de un fármaco en particular, se considera por lo tanto que la estimación de la eliminación de un fármaco puede ser obtenida al determinar la depuración del mismo (CL), la depuración de un fármaco del plasma se expresa como el volumen plasmático del que una sustancia parece eliminada por completo en un período específico^(15, 22). La excreción renal del fármaco es un fenómeno complejo el cual involucra uno ó más de los siguientes procesos: Filtración glomerular, secreción tubular activa y reabsorción tubular pasiva. Dependiendo de cual de éstos procesos es el dominante, la depuración renal puede ser un componente importante ó insignificante en la eliminación del fármaco⁽²²⁾. Conociendo que el ciprofloxacino se elimina considerablemente por vía renal⁽²⁴⁾, entonces, una disminución en la depuración del antibiótico del casi el 29.81 % y 46.18 %, 24 h después de una lesión medular sea por el método de sección o compresión medular al 100 %, nos está sugiriendo que la eliminación renal del fármaco esta siendo alterada. Posiblemente por el hecho de que tras una LTME en estado agudo se presentan, alteraciones cardiovasculares que resultan en una redistribución de flujo sanguíneo, donde tratando de compensar el flujo sanguíneo a órganos vitales como el corazón y el cerebro para evitar la mortalidad de éstos, el flujo sanguíneo se ve aumentado, pero una reducción simultanea del flujo hacia órganos no vitales (hígado, riñón y el sistema gastrointestinal) también se reporta^(11, 14, 24, 37), la situación de una posible disminución en el flujo renal de los animales con LTME puede ser la explicación de los cambios observados en la eliminación de ciprofloxacino, ésta disminución en la depuración del fármaco se refleja también en el hecho de que al no estarse eliminando el fármaco, éste pudiera estarse reabsorbiendo mostrándose como el aumento considerable en la cantidad del fármaco que alcanzó el torrente sanguíneo (ABC_{0-INF}) (Gráfico 9).

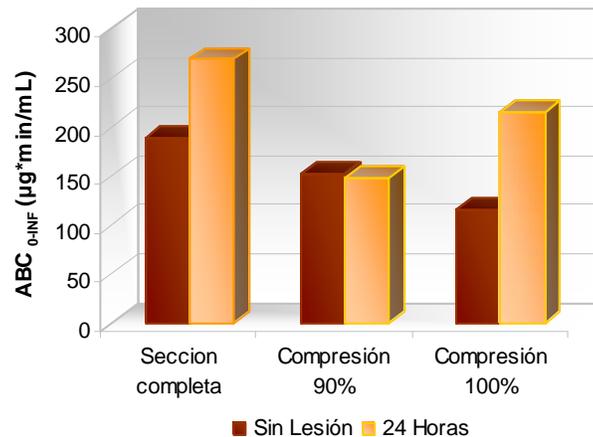


Gráfico 9. Disponibilidad de Ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a dos estadios de tiempo.

El mono con una lesión por compresión al 90 % no presentó un cambio considerable en la depuración del fármaco (un incremento del 2.87 %), lo que pudiera estar sugiriendo que una compresión al 90 %, si bien produjo una paraplejia completa pudiera no ser tan severa como la lesión por sección completa o compresión al 100 %, para denotar el cambio más evidente en la depuración del fármaco y en la cantidad de fármaco presente en el torrente sanguíneo, (Gráfico 9 y 10).

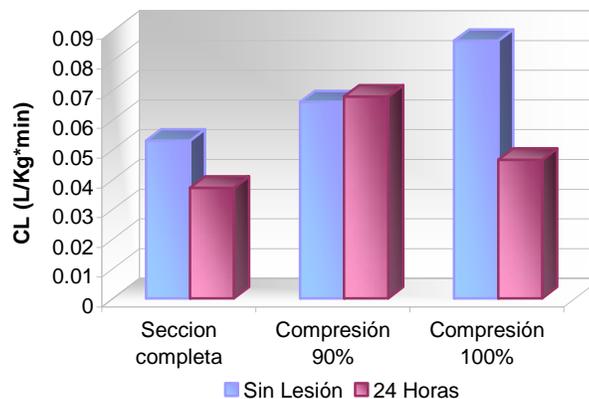


Gráfico 10. Depuración de Ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a dos estadios de tiempo.

En la etapa considerada como subaguda, 15 días posteriores a la lesión, los cambios farmacocinéticos obtenidos no siguieron la tendencia mostrada en la etapa aguda, los parámetros farmacocinéticos obtenidos parecieran revertir el comportamiento observado en la etapa aguda, observándose para los monos con lesión medular por sección y compresión al 100% una disminución de la vida media del fármaco (gráfico 11), coincidente con una disminución en el volumen de distribución (gráfico 12) y un aumento en la depuración del mismo (gráfico 13) con la resultante disminución en la disposición de ciprofloxacino (ABC



0-INF) en el torrente sanguíneo (gráfico 14), al ser comparados todos éstos parámetros con sus valores respectivos antes de cualquier tratamiento quirúrgico (cuadro 3 y 5). Sin embargo, para el mono con una lesión medular por compresión al 90 %, los cambios en los parámetros farmacocinéticos observados en esta etapa, parecen mantenerse de igual forma que los observados en la etapa aguda (cuadro 4). Éstos resultados pueden estar indicando que las alteraciones farmacocinéticas observadas no dependen probablemente de forma completa de las funciones relacionadas con la ausencia de la actividad motora ^(43, 44), dado que todos los animales en ésta etapa presentan paraplejia completa, y pueden estar dependiendo también de la severidad de la lesión ⁽⁹⁾, aunado al hecho de considerar que la LTME no es un estado estacionario. La lesión primaria producida por el trauma mecánico es seguida por una lesión secundaria en la cual se incrementa el daño neuronal original. Atribuido esto a la presencia de múltiples sustancias endógenas entre el área de la lesión, así como también de la interrupción de la microcirculación ^(7, 45, 46).

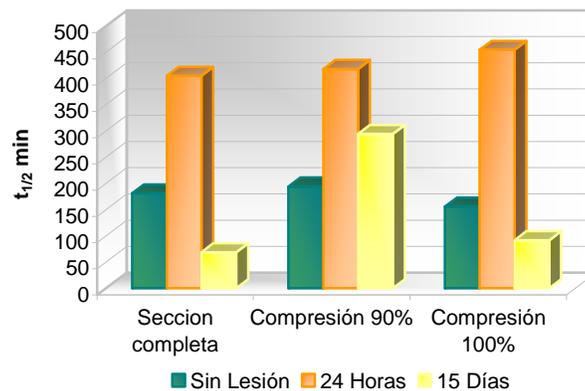


Gráfico 11. Tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de ciprofloxacino, en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a tres estadios de tiempo..

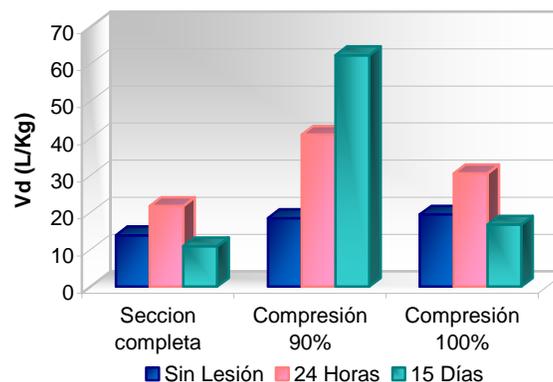


Gráfico 12. Volumen de distribución de ciprofloxacino, en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a tres estadios de tiempo..

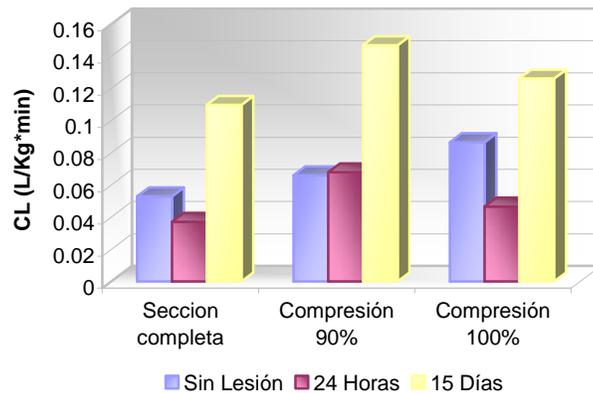


Gráfico 13. Depuración (CL) de ciprofloxacino, en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a tres estadios de tiempo.

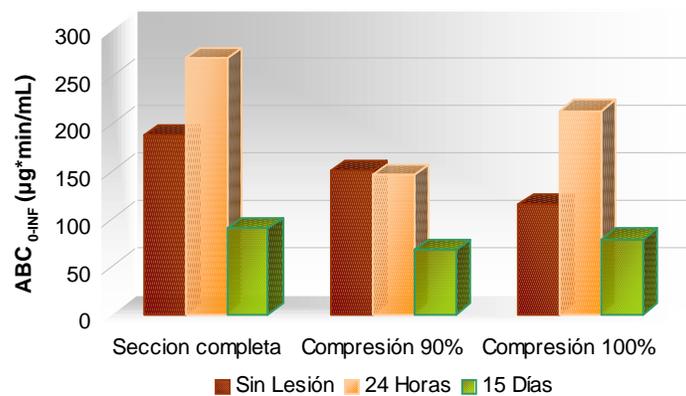


Gráfico 14. Disponibilidad de ciprofloxacino (ABC_{0-INF}), en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a tres estadios de tiempo.

En el periodo considerado como crónico han transcurrido dos meses desde que se realizó la lesión, todos los monos siguen presentando una paraplejía completa y bajo las condiciones del diseño del estudio, en ésta etapa se estableció que los resultados obtenidos indiquen la tendencia final de la disposición del fármaco bajo las condiciones de una lesión medular permanente.

Los resultados obtenidos en la etapa crónica de forma general (Gráfico 15, 16, 17, 18), (cuadros 3-5) continúan mostrando alteraciones en los cursos temporales de Ciprofloxacino, evidenciando cambios en la biodisponibilidad del antibiótico aparentemente diferente según el método de lesión y la severidad de la misma.

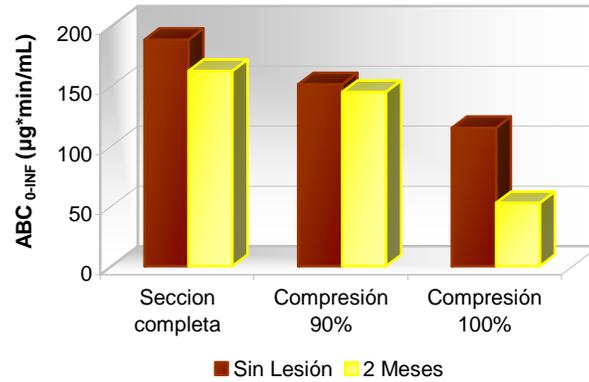


Gráfico 15. Disponibilidad de ciprofloxacino (ABC_{0-INF}), en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % durante la etapa crónica comparadas con su control.

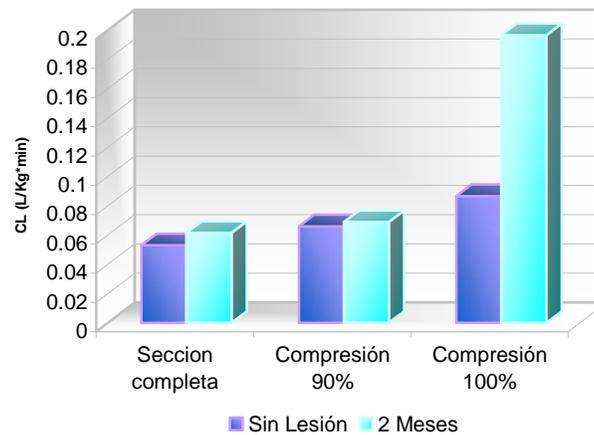


Gráfico 16. Aclaramiento renal (CL) de ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % durante la etapa crónica comparadas con su control.

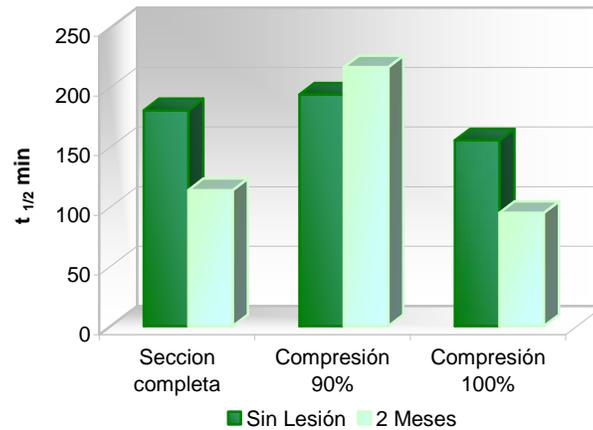


Gráfico 17. Tiempo de vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % durante la etapa crónica comparadas con su control.

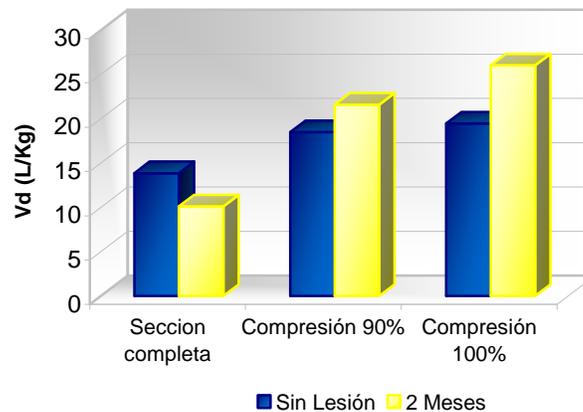


Gráfico 18. Volumen de distribución (V_d) de ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a dos estadios de tiempo, sin lesión y 2 meses después de una LTME.

El mono con una severidad menor en la lesión medular (método de compresión al 90 %) al final del estudio muestra un incremento del 16 % en el volumen de distribución con respecto al estadio inicial, el cual resulta en un prolongamiento del 115 % en la vida media del fármaco, el imperceptible cambio en la depuración del fármaco de $0.066 L/Kg*min$ en la fase inicial a $0.0689 L/Kg*min$, 2 meses después de la LTME no repercute significativamente en la cantidad de fármaco en torrente sanguíneo del mismo (Gráfico 15).

Con una severidad mayor obtenida por el método de compresión (100%), los cambios se denotan mayores con respecto al de 90 % de compresión, al encontrar que no obstante se mantiene en ésta etapa final un incremento en el volumen de distribución del fármaco con



respecto a su valor inicial, la vida media del mismo y la cantidad de fármaco en circulación se denotan en valores menores al ser comparados con sus datos iniciales, esto explicado por el hecho de encontrar un incremento en la depuración del fármaco de casi el 50 % con respecto a su valor inicial, sugiriendo que la alteración sistémica provocada por la LTME pudiera ser de mucho mayor impacto en el flujo sanguíneo ^(37, 46) y como consecuencia cambios en la filtración glomerular se pudieran estar denotando con el incremento en la depuración observada en este tipo de lesión.

En tanto para el modelo de sección completa si bien la depuración del fármaco se mantiene alta con respecto al su valor antes de la lesión medular (incremento del 16 % con respecto al valor inicial) y no tan alto como en la etapa subaguda (incremento del 107 %), ésta repercute en la disminución de la vida media del fármaco, la cantidad de fármaco en el torrente circulatorio y se observa un decremento considerable del volumen de distribución del fármaco cuando los parámetros se comparan con sus valores antes de la lesión medular. (Gráficos 15-18)

El interesante decremento en el volumen de distribución observado en la etapa crónica en el mono con lesión medular por sección completa en contraste con el incremento en el Vd del antibiótico observado en el método por compresión medular (al 90 y 100 %), pudiera estar indicando posibles alteraciones en los mecanismos de distribución del fármaco dependiendo del método de lesión, provocado no sólo por la alteración en el flujo sanguíneo, también por la disminución en la masa muscular que contribuye al incremento de fluido extracelular debido a la lesión por un lado y una disminución en el gasto energético secundario al descenso en la actividad física por otro, factores provocados por la lesión, ⁽⁴⁰⁻⁴²⁾ también por la sucesiva y diferente formación del edema⁽¹¹⁾, causado por el método de lesión medular que pudiera estar existiendo e influyendo en la distribución de ciprofloxacino (Gráfico 19).

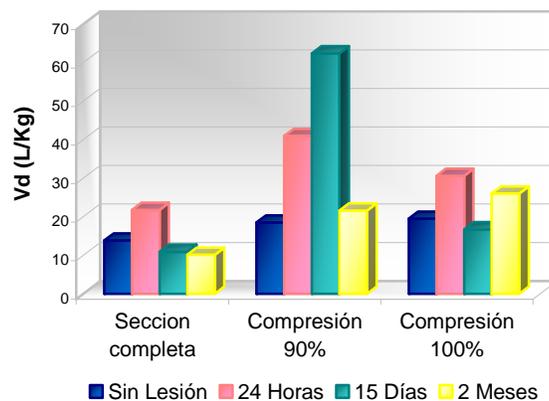


Gráfico 19. Volumen de distribución (Vd) de ciprofloxacino en monos *Rhesus* macho con diferente tratamiento quirúrgico: sección completa, compresión al 90 % y al 100 % a cuatro estadios de tiempo.



Considerando que diversos estudios realizados en modelos experimentales en ratas, empleando una vía de administración intravenosa, reportan que pueden llegar a presentarse alteraciones en la distribución y eliminación, asociados con el volumen de distribución y la depuración renal^(37,41,42), los resultados obtenidos en nuestro estudio pudieran no contradecir a lo previamente reportado, sin embargo para definir de forma correcta la expectativa de la influencia de severidad y método de lesión medular sobre la disposición de ciprofloxacino administrada por infusión intravenosa, un mayor número de animales para cada estudio es requerido.



IX. CONCLUSIONES.

- Se confirma que el método empleado para la cuantificación de ciprofloxacino es preciso, exacto y selectivo de acuerdo a los intervalos de concentración esperados.
- Una lesión medular completa por método de compresión a diferentes intensidades (90 y 100%) o sección completa provoca cambios en la disponibilidad de ciprofloxacino administrado por infusión intravenosa.
- Las alteraciones farmacocinéticas provocados por una LTME pudieran variar con respecto al tipo e intensidad de la lesión, como se observa en los resultados.
- La recuperación en algunos parámetros farmacocinéticos, pudiera deberse a la estabilización del flujo sanguíneo en los sujetos de estudio.
- Una lesión medular por el método de compresión a diferentes intensidades (90 y 100%) o sección completa, genera cambios en la biodisponibilidad de ciprofloxacino administrado por infusión intravenosa.



X. APLICACIÓN DEL PROYECTO..

- Este tipo de estudios contribuyen al conocimiento de la influencia de estados patológicos (LTME).sobre la biodisponibilidad de los medicamentos administrados a pacientes.

- Es conveniente realizar éste tipo de estudios incrementando el numero de individuos (monos *Rhesus*) a fin de poder aplicar un análisis estadístico y determinar la posibilidad de una diferencia estadística significativa en los parámetros farmacocinéticos obtenidos.



XI. BIBLIOGRAFÍA.

1. Guillén del Castillo M., Linares Girela D. Bases biológicas y fisiológicas del movimiento. Madrid: Editorial Medica Panamericana, 2002: pp 169-183.
2. Anatomía del Sistema Nervioso [en línea]. Disponible en: <www.anatomía.tripod.com> [Consulta: 24 febrero 2008].
3. Guyton C. A. Fisiología humana. 6ª Edición. México: Editorial Interamericana-McGraw-Hill, 1987: pp 191-201.
4. "Columna vertebral del ser humano," *Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2000*. © 1993-1999 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos.
5. Médula Espinal [en línea]. Disponible en: www.medulaespinal.org [Consulta: 4 noviembre 2008].
6. Cruz-Antonio L., Castañeda-Hernández G., Flores-Murrieta F. J., García-López P., Guízar-Sahagún G. Alteration of phenacetin pharmacokinetics after experimental cord injury. *Proc. West. Pharmacol* 2002; Vol. 45: pp 4-5.
7. Guizar-Sahagún G., García P., Madrazo I., Pérez G. Oral Paracetamol Bioavailability in rats subjected to experimental spinal cord injury. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*; 1997. Vol 18: pp 203-209.
8. Guizar-Sahagún G., Fuentes L., García P. Effect of experimental spinal cord injury on salicylate Bioavailability after oral aspirin administration. *Pharmacol Toxicol*. 1999: Vol. 42: pp 93-97.
9. Cruz-Antonio L., Flores-Murrieta J. F., García-López P., Guízar-Sahagún G., Castañeda-Hernández G. Understanding drug disposition alterations induced by acute spinal cord injury: role of injury level and route of administration for agents submitted to extensive liver metabolism. *Journal of Neurotrauma* 2006; Vol. 23 No. 1: pp 75-85.
10. García-López P., Guízar-Sahagún G., Castañeda-Hernández G. Effects of high and low thoracic spinal cord injury on the oral pharmacokinetics of paracetamol in rats. *Pharm. Pharmacol. Commun* 1999; Vol. 5: pp 579-581.
11. Das G. D. Perspectives in anatomy and pathology of paraplegia in experimental animals. *Brain Research Bulletin* 1989; Vol. 22: pp 7-32.
12. West J. B. Bases fisiológicas de la practica medica. 12ª Edición. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 1993: pp 1280-1293.



13. Barr M. L. El sistema nervioso humano (un punto de vista anatómico). México: Harla S. A. De C. V., 1974: pp 72-75.
14. Das G. D., Das K. G., Brasko J., Riedl M., Rai P., Rajeswari V. Spinal traumas: some postoperative complications in experimental animals. Brain Research Bulletin 1989; Volumen 22: pp 33-37.
15. Bowman W. C. Farmacología bases bioquímicas y patológicas aplicaciones clínicas. 2^o Edición. México: Nueva Editorial Iberoamericana, 1985: pp 40.1- 40.47.
16. Brody T. M., Lerner J., Minneman K. P. Human pharmacology molecular to clinical. 3^a Edición. Mosby, 1998: pp 47-64.
17. Secretaria de Salud. (2000). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 7^a Ed. México. Editorial talleres gráficos de publicaciones e impresiones en calidad. Tomo I: pp 226, 234-237, 687-688.
18. Remo M. Antibioticos 5^a ed. Editorial Medica Panamericana. Argentina 1993. pp 260-272
19. Merck and Company. The Merck Index. 12^a Ed. USA: Merck and Co. Inc. 1996.
20. Ciprofloxacina. [en línea]. Disponible en :<www.principiosactivos.vademecum.com> [Consulta: 29 octubre 2008].
21. Albarellos G. A., Kreil V. E. and Landoni M. F. Pharmacokinetics of ciprofloxacin after single intravenously and repeat oral administration to cats. J. Vet. Pharmacol. Therap. 2004. (27): pp 155-162.
22. Goodman A and Gilman (editores). Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8^a Edición. México: Editorial Medica Panamericana, 1991: pp 1027-1031.
23. Katzung G. Farmacología básica y clínica. 8^a Edición. México: Editorial El Manual Moderno, 2002: pp 41-58.
24. Kucers A. The use of antibiotics. 4^a ed. J.B. Lippincott Company. USA 1987. pp 1248-1263
25. Venn R. Principles and practice of Bioanalysis; London; Editorial Taylor & Francis, 2000. pp 44-74.
26. High Performance Liquid Chromatography [en línea]. Disponible en :<www.introduction.into.hplc.org> [Consulta: 19 julio 2008].



27. Adamovics J. Chromatographic Analysis of Pharmaceutical a Series of Monographic; New York; Editorial. Jack Cazes, 1990. pp 167. 186.
28. Vega J., Química orgánica para estudiantes de ingeniería. 2^a Ed. México: Editorial Alfa- Omega, 2000: pp 246-252.
29. Guízar-Sahagún G., Castañeda-Hernandez G., García-López P., Franco-Bourland R., Grijalva I., Madrazo I. Pathophysiological Mechanisms Involved in systemic and metabolic alterations secondary to spinal cord injury. Proc. West. Pharmacol. Soc. 1998; Vol. 41: pp 237-240.
30. Bartlett Bunge M., Pears D. D. Transplantation strategies to promote repair of the injured spinal cord. Journal of Rehabilitation Research & Development 2003; Vol. 40 No. 4: pp 55-62.
31. Mejía Alonso M. Tesis Experimental. Farmacocinética de ciprofloxacina administrada por infusión intravenosa en primate no humano con lesión traumática de médula espinal en fase aguda. Directora de tesis M. en F. Cruz Antonio Leticia. UNAM México D. F. 2006. pp 46-48.
32. Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center of Drug Evaluation and Research (CDER), Center of Veterinary Medicine (CVM), Mayo 2001 BP.
33. NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas.
34. Lesión Medular Espinal en DISCAPACINET [en línea] Disponible en: www.e-mexico.gob.mx/ {Citado: septiembre 2008}
35. Ramírez T. J. C. (2005). Validación de un método analítico de cromatografía de líquidos fase reversa para la cuantificación de ciprofloxacina en plasma de primate. FES – Zaragoza. UNAM.
36. Imre S., Dogaru M. T., Vari C.E., Muntean T. and Kelemen L. Validation of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin in human plasma. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2003(33): pp 125-130
37. García P., Cruz A., Guizar G., Castañeda G. Acute spinal cord injury changes the disposition of some, but not all drugs given intravenously. Spinal cord society. 2006; pp 1-6.



38. García López P., et al. An Experimental Model for the Study of Pharmacokinetic Alterations Induced by Spinal Injury in the Rat. *Pharmaceutical Sciences*. 1995. (1): pp 133-135.
39. Bravo G., Rojas R., Larios F., Hong E., Castañeda G., Rojas G., Guizar G. Mechanisms involved in the cardiovascular alterations immediately after spinal cord injury. *Life Sciences*, 2001; 68: pp 1527-1534.
- 40 Segal L. Jack. Et al. Amikacin pharmacokinetics in patients with spinal cord injury. *Pharmacotherapy*. 1988. 8(2): pp 79-81
- 41, Segal L. Jack., Et al. Gentamicin Bioavailability and single-dose Pharmacokinetics in Spinal Cord Injury. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy*. 1988. (22): pp 461-465.
42. Segal L. Jack. Et al. Impaired absorption of intramuscularly administered gentamicin in spinal cord injury. *Current therapeutic research*. 1986. 39(6): pp 961-969.
43. García LP, Pérez UJ, Madrazo I, Guizar SG, Castañeda HG. Oral Paracetamol Bioavailability in rats subjected to Experimental Spinal Cord Injury. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 1997; 18(3): pp 203-211.
44. Segal J. L., Brunnemann S. R. (1989). Clinical pharmacokinetics in patients with spinal cord injuries. *Clinical pharmacokinetic*. 17 (2); pp 109 – 129.
45. Profyris Ch., Cheema S. Surindar., Zang DaWei., Azari F. Michael., Boyle K., Petratos S. Degenerative and regenerative mechanisms governing spinal cord injury. *Neurobiology of Disease*. 2004. (15): pp 415-436.
46. Guizar S. G., Velasco H. L., Martínez C. A., Castañeda H. A., Bravo G., Rojas G., Hong E. (2004). Systemic microcirculation after complete high and low thoracic spinal cord section in rats. *Journal of neurotrauma* 11 (21); pp 1614 – 1621.



ABREVIATURAS.

ABC_{0-INF}: Área Bajo la Curva extrapolada a infinito.

ABC_{0-t}: Área Bajo la Curva extrapolada a tiempo t.

ADN: Ácido Desoxiribonucleico.

CL: Depuración renal.

CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

cm: Centímetro.

CV: Coeficiente de variación.

dpt: Trauma directo primario.

e.e. : Error estándar.

h: Horas.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

Idpt: Trauma indirecto primario.

IR: Infrarrojo.

L/Kg*min: Litro por kilogramo por minuto.

L/Kg: Litros por kilogramo.

LS: Dispersión ligera.

LTME: Lesión Traumática de Médula Espinal.

mg/Kg: Miligramo por kilogramo.

min: Minutos.

mm: Milímetro

NMR: Resonancia Magnética Nuclear.

r²: Coeficiente de correlación.



SN: Sistema Nervioso.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNP: Sistema Nervioso Periférico.

Sp: Cambios patológicos secundarios.

t_{1/2}: Tiempo de vida media de eliminación.

T9: Vértebra torácica T9.

UV: Ultravioleta.

Vd: Volumen aparente de distribución.

µg*min/mL: Microgramo por minuto por mililitro.

µg/mL: Microgramo por mililitro.

µL: Microlitro.