



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

FARMACOCINÉTICA DE CIPROFLOXACINA ADMINISTRADA POR INFUSIÓN
INTRAVENOSA EN PRIMATE NO HUMANO CON LESIÓN TRAUMÁTICA DE
MÉDULA ESPINAL EN FASE AGUDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

MARICELA ALONSO MEJÍA

ASESOR Y DIRECTOR DE TESIS

M. en F. LETICIA CRUZ ANTONIO



MÉXICO, D.F. 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

*A la vida, por representar un reto para mí
día con día, y porque con cada amanecer, me
invita sutilmente a crecer humanamente.*

*A mi familia, que más que con palabras, me
ha demostrado con hechos que cree en mí,
gracias por la espera y el apoyo otorgados.*

*A la Dra. Leticia Cruz, por la invaluable confianza
y paciencia que me otorgó para realizar este
proyecto, por su profesionalismo y dedicación.
Pero sobre todo, por elegir una profesión tan
difícil y siempre dar lo mejor de sí sin titubear.*

*A todos y cada uno de los profesores que dan
cátedra en la escuela, y que esperan formar
profesionales comprometidos, reflexivos
y principalmente, humanos
que sirvan a la sociedad.*

*A vos, con quien hace ya unos años inicié este
sueño, y que en remotos ayer partiste en busca
de tu propio sol. Gracias por aún existir y por
haberte cruzado en mi camino.*

TABLA DE CONTENIDO

	Página.
I. Introducción	1
II. Fundamento teórico	4
2.1 Farmacocinética	4
2.2 Etapas de la farmacocinética	5
2.2.1 Absorción	5
2.2.2 Distribución	6
2.2.3 Biotransformación	8
2.2.3.1 Vías del metabolismo de los fármacos	9
2.2.4 Eliminación	10
2.3 Vías de administración	13
2.3.1 Vías enterales	13
2.3.2 Vías parenterales	13
2.3.2.1 Vía intravenosa	14
2.4 Lesión traumática de la médula espinal (LTME)	16
2.4.1 Médula espinal normal	16
2.4.2 Definición e incidencia de la LTME	17
2.4.3 Síntomas y complicaciones en la LTME	19
2.4.4 Fenómenos fisiopatológicos después de una LTME	21
2.4.5 Alteraciones farmacocinéticas en la LTME	24
2.5 Las quinolonas y su mecanismo de acción	28
2.5.1 Ciprofloxacina	30
2.5.2 Descripción y solubilidad	30

2.5.3	Indicación terapéutica y usos	31
2.5.4	Farmacocinética y farmacodinamia en humanos	32
2.6	Cromatografía	34
2.6.1	Definición	34
2.6.2	Clasificación de la cromatografía	34
2.6.3	Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)	35
2.7	Validación de métodos analíticos	36
2.7.1	Definición	36
2.7.1.1	Linealidad	37
2.7.1.2	Precisión	37
2.7.1.3	Exactitud	38
2.7.1.4	Especificidad	38
2.7.1.5	Estabilidad de la muestra	39
2.7.1.6	Límite de cuantificación	39
2.7.1.7	Límite de detección	39
2.7.1.8	Tolerancia	40
III.	Planteamiento del problema	41
IV.	Objetivos	43
V.	Hipótesis	44
VI.	Desarrollo experimental	45
6.1	Material	46
6.2	Reactivos	46
6.3	Equipo e instrumentación	47

6.4	Parte experimental	47
6.4.1	Manejo de los primates sometidos a investigación	47
6.4.1.1	Antes del tratamiento quirúrgico	47
6.4.1.2	Después del tratamiento quirúrgico	48
6.4.2	Preparación de la curva de calibración previa al estudio farmacocinético	49
6.4.3	Método analítico utilizado para el análisis cromatográfico	51
6.4.3.1	Sistema cromatográfico	51
6.4.3.2	Preparación de la fase móvil	51
6.4.4	Estudio farmacocinético	51
6.4.4.1	Manejo y análisis de las muestras biológicas de los primates sometidos a estudio	52
VII.	Resultados y análisis de resultados	53
7.1	Curva de calibración	53
7.2	Farmacocinética de ciprofloxacina pre y post – intervención quirúrgica del mono 1	56
7.3	Farmacocinética de ciprofloxacina pre y post – lesión medular del mono 2	59
7.4	Aplicación del proyecto	65
VIII.	Conclusiones	66
IX.	Ventajas, desventajas y sugerencias	67
X.	Referencias bibliográficas	68

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas principales en materia de salud, que afectan a la población económicamente activa de un país y que tiene efectos catastróficos tanto en el aspecto físico, como económico y emocional, es la lesión traumática de la médula espinal.

Una lesión de este nivel desencadena una serie de mecanismos fisiopatológicos que modifican la respuesta del organismo ante las terapias con medicamentos. Tales alteraciones involucran trastornos en la circulación sanguínea (como consecuencia del cambio en el ritmo cardiaco), la motilidad gastrointestinal, el vaciamiento gástrico, entre otras que implican de manera importante la necesidad de definir, mediante el estudio experimental en modelos animales, perfiles farmacocinéticos de fármacos que posteriormente puedan ser aplicados a pacientes con lesión medular.

Una complicación que se presenta con frecuencia en pacientes con lesión medular, es la infección de las vías urinarias; de modo que es necesaria la administración de antibióticos. Uno de éstos es la ciprofloxacina, un antimicrobiano del grupo de las quinolonas, que es un agente eficaz contra bacterias grampositivas y gramnegativas. El estudio farmacocinético de este antibiótico se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigación Camina Proyecto para Curar la Parálisis, donde uno de sus objetivos es evaluar el impacto de la lesión traumática de médula espinal (LTME) sobre la farmacocinética de fármacos, que en el caso particular de la ciprofloxacina podría alterarse, lo que traería como consecuencia la disminución de su efecto farmacológico. Así, este estudio se realizó con el fin de sustentar con resultados experimentales si la LTME provoca cambios en la farmacocinética de la ciprofloxacina que impliquen considerar la posibilidad de ajustar la dosis para obtener el efecto terapéutico deseado.

Los efectos de la LTME dependen del tipo, nivel y tiempo de la lesión. La LTME puede ser clasificada en dos tipos de lesión: lesión completa y lesión incompleta. Una lesión completa significa que no hay sensibilidad ni función motora por debajo del nivel de lesión y los cambios sistémicos y metabólicos son más severos que en una lesión incompleta, además en una lesión aguda completa, el flujo plasmático renal efectivo decrece significativamente¹².

La ciprofloxacina es un agente antimicrobiano que se elimina principalmente por vía renal y su farmacocinética se modifica en pacientes con falla renal; el uso de la ciprofloxacina para el tratamiento de infecciones en el tracto urinario en personas con lesión medular es común, por lo que en este trabajo se planteó evaluar la influencia de la LTME aguda sobre la farmacocinética de la ciprofloxacina administrada por infusión intravenosa en mono rhesus macho a una dosis de 10 mg /Kg. El método experimental para causar la LTME en el modelo animal en cuestión, se realizó causando compresión medular a nivel de la vértebra torácica 9 (T9) mediante el uso de un globo epidural. El estudio farmacocinético se llevó a cabo antes del procedimiento quirúrgico y 24 horas después, a través de la toma de muestras sanguíneas a tiempos preestablecidos por un período de 10 horas. Las concentraciones plasmáticas de ciprofloxacina se determinaron usando la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), la cual combina las técnicas de separación, con aditamentos y equipo que permiten la cuantificación de la ciprofloxacina por medio de la espectroscopia en el ultravioleta (UV). El modelo experimental con LTME mostró un aumento en el área bajo la curva evaluada al infinito (ABC_{inf}), así como un evidente incremento en el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y en el volumen de distribución (V_d), presentando además cambios en el aclaramiento renal (Cl) con respecto a lo evaluado antes de causar la lesión; mientras que los perfiles farmacocinéticos de un mono antes y después de una laminectomía (proceso quirúrgico previo para poder causar la lesión medular), fueron aparentemente similares. Los resultados sugieren que la LTME aguda a nivel de T9, podría no afectar la eliminación renal de la ciprofloxacina significativamente pero si podría modificar la distribución del fármaco posiblemente

por cambios en el flujo sanguíneo debido a alteraciones circulatorias provocadas por la lesión traumática de médula espinal en fase aguda.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO ¹⁻⁷

2.1 Farmacocinética

La farmacocinética es una disciplina que estudia desde un enfoque cuantitativo, la evolución del medicamento en el organismo en función del tiempo y de la dosis. Dicho de otro modo, estudia la relación entre la administración de un fármaco, el tiempo que tarda en distribuirse y la concentración alcanzada en diferentes partes del organismo. En consecuencia, se tratan desde una perspectiva dinámica y cuantitativa los procesos de liberación, absorción, distribución, biotransformación y eliminación de los fármacos, trayectoria que se conoce como el proceso LADBE, mejor ilustrada en la figura siguiente:

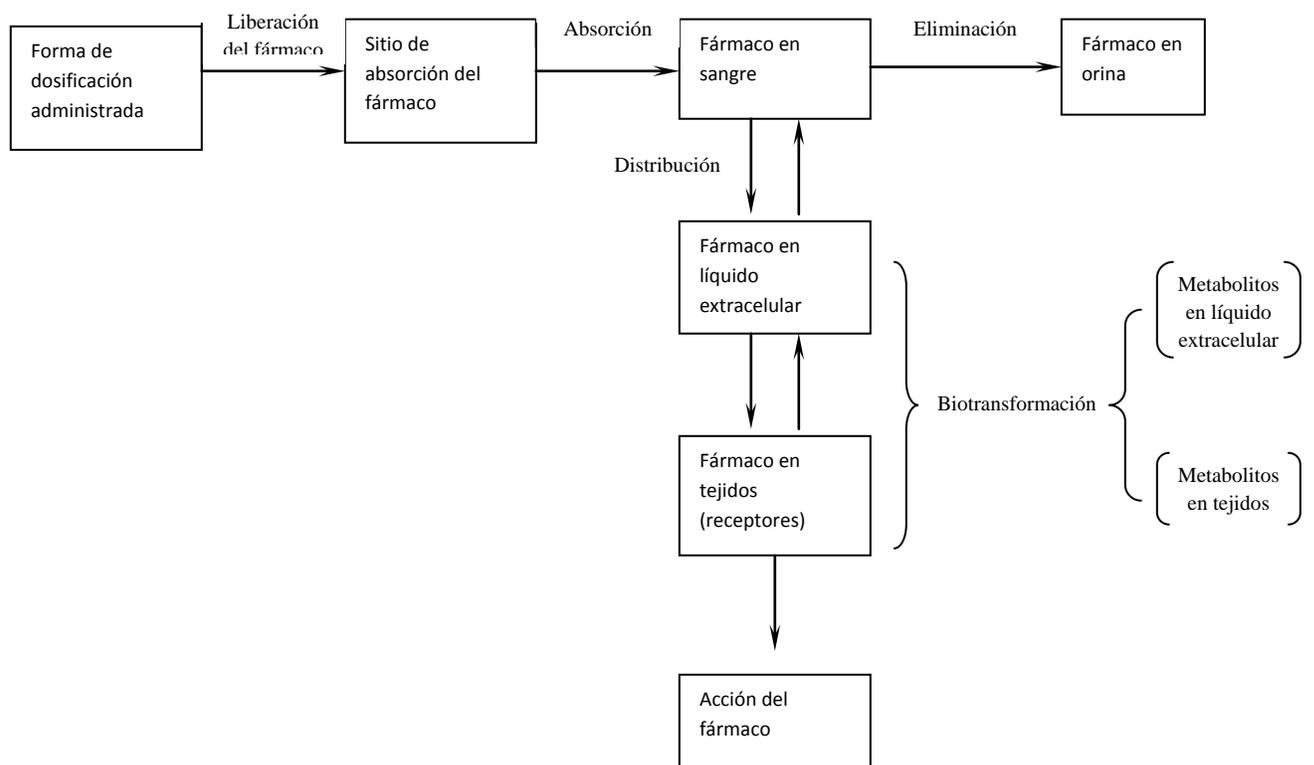


Figura 1. Representación esquemática de la liberación, absorción, distribución, biotransformación y eliminación de los fármacos. Proceso LADBE.

Así como implica el estudio y caracterización del proceso LADBE a la farmacocinética, también concierne a esta, la relación de dicho proceso con la intensidad del curso temporal de sus efectos terapéuticos y toxicológicos, para lo cual, se usan modelos matemáticos que facilitan el estudio de la farmacocinética de fármacos y sustancias químicas en el organismo mediante la determinación de sus niveles en medios representativos adecuados como son los líquidos biológicos (sangre, plasma, líquido cefalorraquídeo), los productos de eliminación (la orina y las heces), o el aire espirado, mismos que son útiles como indicadores de las concentraciones de los fármacos terapéuticamente importantes en sitios blanco específicos. Todo enfocado al esfuerzo por mantener el nivel de los fármacos en un espectro terapéuticamente efectivo sin efectos colaterales y/o tóxicos significativos.

Cabe mencionar que la cantidad y velocidad con la cual la sustancia química accede a la circulación sistémica, están determinados por la vía de administración y las características químicas del fármaco.

La utilidad del conocimiento farmacocinético en terapéutica permite frecuentemente explicar la forma de uso de un fármaco y sugerir un régimen de dosificación más conveniente con base en la manipulación de vías de administración, dosis, intervalo entre dosis y duración del tratamiento, con lo cual cada vez con mayor frecuencia, la farmacocinética se utiliza en el ámbito clínico para el manejo seguro y efectivo del paciente, recibiendo el nombre de farmacocinética clínica.

2.2 Etapas de la farmacocinética

2.2.1 Absorción

Este proceso, comprende el paso de un fármaco desde su sitio de aplicación hasta el torrente circulatorio. La mayoría de las vías de administración, con

excepción de la vía intravenosa e intraarterial, implican este proceso. Así, en la mayoría de los casos, el fármaco tiene que absorberse y llegar a la sangre antes de alcanzar su sitio de acción. Por tanto, si un fármaco requiere realizar este paso, son de gran importancia los factores fisicoquímicos como la hidrosolubilidad (necesidad de disolverse en el estómago e intestinos) y la liposolubilidad para poder atravesar las barreras epiteliales que habitualmente son de naturaleza lipídica; también influye el tamaño molecular, siendo mejor absorbidos los compuestos pequeños, así como el grado de ionización y de unión a las proteínas plasmáticas, factores que determinan el paso del fármaco a través de las barreras lipídicas y el grado de distribución respectivamente. Es importante además, considerar que el grado de liposolubilidad de fármacos denominados ácidos y bases débiles, está influida por el pH del medio en que se puedan encontrar.

Los fármacos atraviesan las membranas por: *difusión pasiva*, proceso que depende del coeficiente de difusión, el área superficial, el grosor de la membrana y el gradiente de concentración; *transporte especializado*, que a su vez comprende el *transporte activo* mismo que se verifica contra un gradiente de concentración, es saturable y requiere de aporte de energía; y a la *difusión facilitada*, que no requiere energía y se verifica siempre a favor de un gradiente de concentración; y finalmente por *pinocitosis*. Lo hasta ahora mencionado es imprescindible de conocer, ya que con mayor frecuencia, los receptores hacia los cuales apuntan los fármacos se localizan a cierta distancia del sitio de aplicación.

Así, del proceso de absorción se deriva el término *biodisponibilidad*, que significa la cantidad y velocidad a la cual se absorbe un fármaco desde el sitio de administración y que queda disponible en el sitio de acción (la biofase de los receptores tisulares) para ejercer su efecto farmacológico.

2.2.2 Distribución

Antes de que un fármaco pueda ejercer su acción farmacológica en los receptores específicos, debe salir de la sangre, puesto que este no es el lugar

donde normalmente desarrolla su efecto, con lo que una vez presente en la circulación, debe penetrar en los tejidos para poder actuar. El fármaco una vez que se absorbe, debe atravesar la pared capilar, llegar al espacio extracelular y atravesar la membrana celular distribuyéndose así por todo el agua corporal.

La farmacocinética estudia al organismo dividido en compartimentos virtuales donde se considera que el fármaco está distribuido de manera uniforme. Según el grado de afinidad del principio activo por algunos órganos y tejidos será el número de compartimentos en los que se dividirá al organismo. Así, si el fármaco se distribuye homogéneamente y en forma instantánea se considera al organismo como un modelo monocompartimental. Si por el contrario presenta una distribución heterogénea se considera dividir al organismo en dos o más compartimentos, de los cuales uno siempre será el central que implica a la sangre, siendo los demás los compartimentos periféricos.

En la sangre, el fármaco se distribuye rápidamente entre el plasma y los eritrocitos. Pudiéndose hallar en estado libre o unido a las proteínas plasmáticas (usualmente albúmina), debe tenerse en cuenta que en el segundo caso se trata de la forma inactiva del fármaco, pudiendo considerarse como fármaco en depósito, y que dicha interacción disminuye la difusión y prolonga el efecto terapéutico. De modo que en síntesis, el proceso de distribución comprende el paso de un fármaco libre, de la sangre al fluido extravascular (líquido extra e intracelular) y hacia los tejidos.

Cabe mencionar que el paso del fármaco entre los compartimentos es una función dinámica continua, a través de la cual cambia en forma constante la concentración del mismo en un compartimento determinado. Frecuentemente la distribución de un fármaco es un proceso rápido y se caracteriza por ser reversible, lo cual implica que existe un equilibrio de distribución de la sustancia activa tanto en plasma como en fluidos corporales y tejidos. En consecuencia, cambios en la concentración del fármaco en plasma, a menudo son indicativos de

cambios en los niveles de fármaco en otros tejidos, incluyendo los sitios de efecto farmacológico.

Existen diversos factores, tanto farmacológicos como fisiológicos, que intervienen en la distribución de los fármacos, algunos de estos son; *el gradiente de concentración* entre el fármaco no unido a las proteínas plasmáticas y el agua extracelular, que influye de manera proporcional con la velocidad con la cual un fármaco sale de la circulación; el *flujo sanguíneo* mismo que es característico para cada tejido, cuya cantidad hacia el mismo afecta directamente a la cantidad del fármaco que ingresa a dicho tejido; y finalmente los *factores fisicoquímicos* que ya han sido mencionados con anterioridad, y que intervienen ampliamente con el grado de distribución siendo característicos para cada fármaco.

2.2.3 Biotransformación

Los cambios bioquímicos verificados en el organismo, mediante los cuales se modifican las características de las sustancias administradas al mismo son entendidos como biotransformación. Si bien es cierto que el metabolismo de los fármacos ocurre en distintas células del organismo, el órgano más significativo cuantitativamente es el hígado. En la mayoría de los casos, el producto del metabolismo resulta ser más soluble, más fácil y rápidamente excretado por los riñones (por mencionar una vía de eliminación) y menos activo farmacológicamente que el fármaco original.

Se podría considerar que la biotransformación es un factor limitante de la duración de la acción de los fármacos, puesto que es regulada in vivo por cierto número de factores, incluyendo diversos sistemas enzimáticos que son diferentes y específicos, mismos que son necesarios para la regulación homeostática de compuestos endógenos.

En el caso de muchos fármacos, existe una relación inversamente proporcional entre la duración del efecto farmacológico y la velocidad con la cual son

los hepatocitos: en el citosol, las mitocondrias o el retículo endoplásmico, llamando a estos últimos organelos celulares *fracción microsómica*. Cabe anexar, que las enzimas que catalizan las biotransformaciones de la fase I se conocen con el nombre de citocromo P-450. El resultado de esta primera fase, es un ligero incremento de la solubilidad en agua, sin embargo, quizá lo más importante de estas reacciones, es que crean sitios para que la conjugación ocurra (reacciones de la fase II).

Por su parte, la fase II del metabolismo de los fármacos implica la conjugación del fármaco oxidado, siendo clasificadas como transferasas, las enzimas que catalizan dichas reacciones en las cuales los productos conjugados producidos están ionizados al pH fisiológico, de tal forma que incrementan de manera notable la solubilidad del compuesto en agua.

De modo que los cambios bioquímicos verificados en el organismo, mediante los cuales las sustancias extrañas se convierten en otras más ionizadas, más polares, más hidrosolubles, menos difusibles y más fácilmente eliminables que la sustancia original, son entendidos como biotransformación.

Las diferencias observadas en la duración de la acción de muchos fármacos en la población humana son atribuidas mayoritariamente a la variación de los niveles de los sistemas enzimáticos que metabolizan los fármacos, siendo la edad, el género, el estado nutricional, la carga genética y por supuesto las situaciones patológicas, las causas a las que se atribuye dicha variación.

2.2.4 Eliminación

La salida de un medicamento del organismo ya sea por excreción renal o biliar del fármaco inalterado, o por metabolismo, es un proceso conocido como eliminación. Además del metabolismo y la redistribución, esta es una forma obvia de terminar con su acción farmacológica toda vez que implica el paso de un fármaco del medio interno al exterior mediante los diferentes productos de

secreción del cuerpo: orina, heces, aire espirado, sudor, lágrimas, saliva y leche. Para fines prácticos y considerando la principal vía de eliminación del fármaco estudiado en este proyecto, se considerarán los aspectos relacionados con la excreción renal.

Tanto la transformación enzimática o bioquímica (metabolismo) de un fármaco a metabolitos inactivos, como su transferencia a la orina y a otros compartimentos excretores ya mencionados, implican procesos irreversibles cuyo resultado neto es la eliminación, en función de la cual, el efecto de algunos fármacos puede disminuir en forma directa a su velocidad de excreción.

Dos órganos particularmente importantes en la eliminación de los fármacos, son el hígado y los riñones, ya que ambos trabajan en sincronía para acelerar la eliminación de fármacos o compuestos extraños del cuerpo.

Una de las vías principales por medio de la cual un alto porcentaje de los fármacos usados salen del organismo, es la *vía renal*, misma que depende de un complejo interjuego entre la reabsorción activa o pasiva y la secreción tubular. Sin embargo, cabe mencionar que a través de esta vía se pueden eliminar todas las sustancias de tamaño molecular menor que las proteínas plasmáticas, las cuales pasan a la luz de los túbulos renales por un proceso de filtración glomerular, no pasando los agentes unidos a las proteínas plasmáticas de peso molecular elevado que no son filtrables. Así, aunado a esto puede apreciarse que las formas más hidrosolubles de una sustancia se excretarán con más facilidad por los riñones, y si se modifica el pH urinario se influirá de forma significativa en la excreción renal de algunos ácidos y bases débiles, incrementando la velocidad de excreción urinaria de la forma ionizada menos liposoluble del fármaco, de tal forma que el pH urinario influye sobre la disociación e interviene en el proceso de reabsorción.

Es importante mencionar que debido a que un fármaco es manejado en forma preponderante por un órgano debe saberse el estado funcional del mismo, puesto que si es deficiente, se prolongará la duración del efecto y se potenciará su actividad si no se reduce la frecuencia de administración. Aunado a esto, si la circulación sanguínea al órgano excretor se reduce también habrá variación en la excreción, lo cual sucede en estados patológicos como insuficiencia cardiaca congestiva; lesión traumática de médula espinal o choque cardiogénico. Por consiguiente, deben hacerse ajustes en los regímenes de dosificación, si se detecta que los estados patológicos alteran notablemente la farmacocinética de los fármacos administrados a pacientes con alguno de estos padecimientos, con el fin de conseguir niveles sanguíneos terapéuticos y reducir al mínimo los niveles tóxicos del medicamento, mediante la reevaluación de las dosis de los fármacos consideradas apropiadas para los individuos normales.

En síntesis, el hecho de que la concentración plasmática de un fármaco varíe en diferentes tiempos, después de su administración, es indicativo de que el proceso LADBE es simultáneo. De tal manera que la carga corporal de un fármaco cambia continuamente como una función de los procesos de adición y substracción. Esto se observa mejor en la Figura 3.

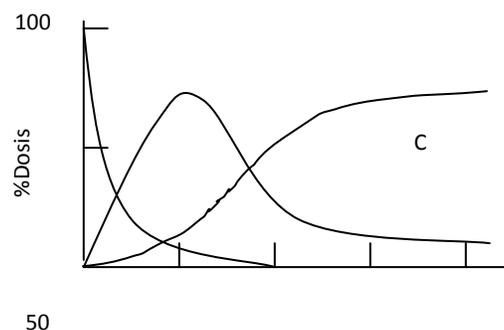


Figura 3. Representación esquemática de la distribución de un fármaco como una función del tiempo después de su administración. La curva A indica el porcentaje de la dosis en el sitio de absorción. La curva B el porcentaje de la dosis en el cuerpo y la curva C indica el porcentaje de la dosis eliminada.

2.3 Vías de administración

Una manera de influir sobre la velocidad y la eficiencia con las cuales actúa un fármaco, es la vía de administración que se elige. De manera general, se han dividido estas vías en dos clases mayores: la *enteral*, referida al intestino y la *parenteral* que significa diferente al intestino.

2.3.1 Vías enterales

También consideradas vías de administración mediatas o indirectas. Se considera a la vía oral como la más representativa de esta clasificación por ser la más común y fácil de utilizar, además de que minimiza el riesgo concomitante de infecciones virales y bacterianas. Sin embargo, presenta ciertas desventajas como son; un comienzo más lento de la acción, tasas variables de absorción e inactivación en la vía gastrointestinal. Así, los medicamentos administrados por esta vía acceden a la circulación periférica prácticamente a través del sistema portal del hígado en donde, como ya se mencionó, se lleva a cabo de forma preponderante, la biotransformación de los fármacos. De modo que la acción de dicho órgano durante el primer recorrido del fármaco en la circulación puede evitar que una fracción importante de la dosis administrada llegue al sitio de acción, lo que implicará una reducción tanto del área bajo la curva (ABC) de niveles plasmáticos – tiempo; como de la fracción excretada en orina de fármaco inalterado. Otro factor que influye en la absorción de los fármacos en esta vía es el vaciamiento gástrico, el cual si se retrasa, puede retardar también el proceso de absorción.

2.3.2 Vías parenterales

Hay muchas rutas parenterales, siendo las más comunes las vías intravenosa (I.V.), intramuscular (I.M.), subcutánea (S.C.), intra-arterial (I.A.), las de inhalación y las aplicaciones tópicas en la piel, ojos y ciertas membranas mucosas. Los medicamentos administrados por estas vías penetran en forma directa en la

circulación venosa periférica, iniciando la distribución en tejidos y órganos pasando por el hígado durante el primer recorrido menos de un 30% de la dosis.

Así, de manera general, los fármacos administrados por estas vías están disponibles con más rapidez en comparación con la vía enteral, además pueden minimizar la influencia de las enzimas metabólicas del hígado y también evitar las enzimas bacterianas digestivas, reduciendo a un mínimo la variabilidad entre los pacientes asociada con la absorción. Sin embargo, no hay que pasar por alto que, la inyección directa de los fármacos a la circulación general implica una mayor probabilidad de efectos adversos (debido a que alcanzan concentraciones tisulares altas de forma rápida), e incluso de infecciones si no se toman las debidas precauciones.

2.3.2.1 Vía intravenosa

Como ya se mencionó, esta vía permite eludir todas las barreras de la absorción y su disponibilidad depende solo de la velocidad de la venoclisis, de tal forma que la biodisponibilidad no es considerada cuando un fármaco es administrado mediante inyección intravenosa, por el hecho de que tanto la cantidad de éste como su velocidad de administración pueden ser controladas de manera precisa.

Una modalidad de la vía intravenosa, es la infusión intravenosa, un modo de administración particularmente utilizado cuando se requiere una terapia continua con fármacos que tienen vidas medias pequeñas y/o reducidos índices terapéuticos.

Este tipo de administración intravenosa se caracteriza por un ingreso continuo de orden cero, en lugar de iniciar con una concentración pico como sucede en el caso de una dosis I.V. única, y se comienza con concentraciones bajas del fármaco que aumentan gradualmente a medida que la infusión continúa. Esto se ilustra mejor en el esquema siguiente:

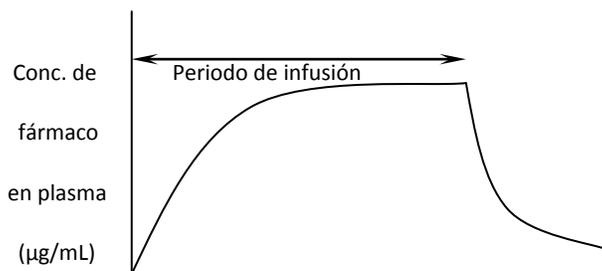


Figura 4. Representación esquemática que ejemplifica el curso temporal de la concentración plasmática de un fármaco antes y durante una infusión intravenosa a velocidad constante.

Al observar la gráfica, es evidente que al principio, la eliminación es muy lenta debido a la baja concentración del fármaco en plasma, sin embargo va aumentando hasta alcanzar una velocidad máxima que iguala a la velocidad de infusión, llegando a un estado de equilibrio dinámico, también llamado meseta donde la velocidad de entrada del fármaco es igual a la velocidad de salida de este, lo que implica una concentración plasmática constante hasta el momento en el que cesa la infusión, en el cual comienza a caer la concentración plasmática del fármaco de manera exponencial como se aprecia en el esquema anterior.

Existen otras situaciones en las que el fármaco se incorpora a una velocidad constante y que presenta un comportamiento similar al de la infusión I.V., éstas son por ejemplo, la aplicación de anestesia mediante la inhalación de un gas o bien la aparición en sangre de un fármaco que se va cediendo mediante un sistema de administración transdérmico (parche de nitroglicerina).

2.4 Lesión traumática de la médula espinal (LTME)

2.4.1 Médula espinal normal ⁸

La médula espinal consta de muchas fibras nerviosas que son las encargadas de transmitir los mensajes entre el cerebro y las diferentes partes del cuerpo. Las fibras nerviosas constituyen el sistema de comunicación del cuerpo.

Los mensajes pueden estar relacionados:

- Con el movimiento: ordena a alguna parte del cuerpo que se mueva.
- Con los sentidos: mensajes de sensación o tacto desde el cuerpo al cerebro, como calor, frío o dolor.
- Sistema nervioso autónomo: que controla las actividades involuntarias del cuerpo como la presión sanguínea, la temperatura corporal y el sudor.

La médula espinal es como un “cable telefónico” que conecta “la central” con otras oficinas particulares mediante “líneas telefónicas” (las fibras nerviosas).

Al ser una parte vital de nuestro organismo, se encuentra muy protegida por unos huesos que son las vértebras, que se alinean formando la columna vertebral o espinal.

La médula espinal se extiende desde la base del cráneo hasta la cintura. El haz de fibras nerviosas que la constituyen son las neuronas motoras superiores. Los nervios espinales se ramifican desde la médula espinal hacia arriba y abajo del cuello y la espalda. Estas ramificaciones o neuronas motoras inferiores salen entre cada vértebra y llegan a todas las partes del cuerpo. La médula espinal termina cerca de la cintura y de aquí, las fibras nerviosas espinales llegan hasta el sacro (parte final de la espalda).

En la columna vertebral se distinguen cuatro porciones:

- Cervical: siete primeras vértebras que corresponden al cuello.
- Dorsal o Torácica: doce siguientes vértebras correspondientes al pecho.
- Lumbar: las cinco vértebras siguientes.
- Sacra: constituida por cinco vértebras fusionadas formando un solo hueso.

Lo anterior se aprecia mejor en los siguientes esquemas:

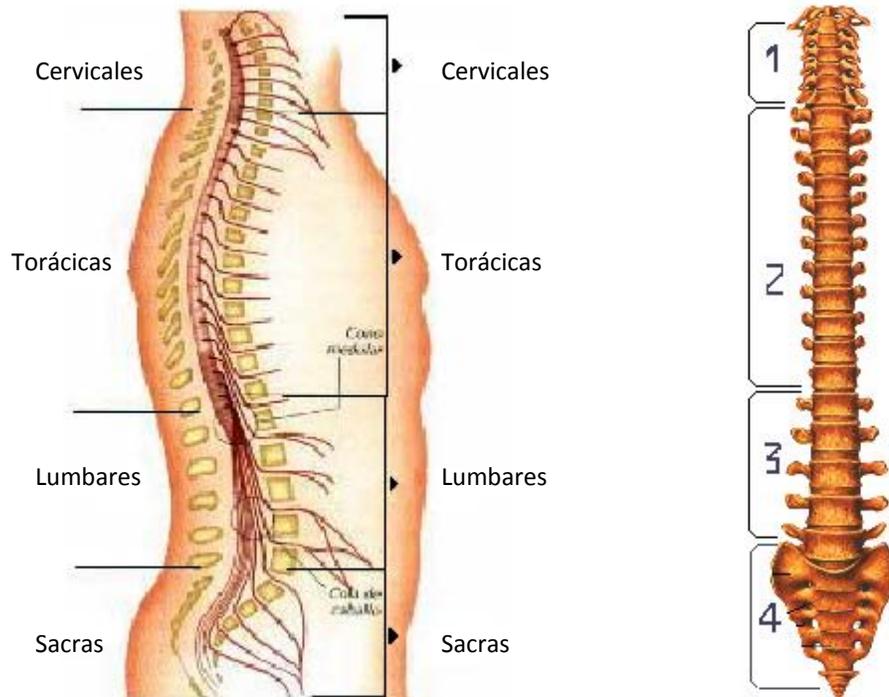


Figura 5. Esquemas que ilustran las secciones en que se divide la columna vertebral.

2.4.2 Definición e incidencia de la LTME ^{9-11, 13}

La LTME es un evento inesperado y catastrófico considerado como un problema de salud pública con consecuencias que persisten en la vida del paciente a partir de que sufre la lesión, influyendo en diversas formas no solo en el

paciente sino en los miembros de la familia y la sociedad a largo plazo con profundos efectos económicos, físicos y emocionales.

Cuando ocurre una lesión en la médula espinal, todos los nervios por encima de la lesión funcionan perfectamente, pero por debajo, los nervios de la médula no pueden enviar mensajes entre el cerebro y las diferentes partes del cuerpo, quedando generalmente con serias secuelas neurológicas permanentes.

En consecuencia, cuanto más alta sea la lesión, mayor es la pérdida de función. La LTME se clasifica en dos tipos:

Paraplejía. Cuando una persona ha perdido la sensibilidad y no es capaz de mover la parte inferior de su cuerpo. La lesión se encuentra en la parte dorsal, lumbar o sacra.

Tetraplejía. Cuando ha perdido sensación y movimiento en la parte inferior y superior del cuerpo. La lesión se encuentra a nivel cervical.

En pacientes con daño medular agudo, es bien sabido que el daño mecánico raramente secciona de manera completa la médula espinal incluso en los casos en que hay una pérdida completa de la función neurológica clínica posterior al daño. Siendo el mecanismo de daño primario en la mayoría de los casos de LTME, una compresión aguda o laceración de la médula espinal debida al desplazamiento de los huesos o discos que la protegen durante la dislocación o fractura de la espina dorsal.

De tal forma, la severidad de las alteraciones sistémicas parece depender tanto del nivel del segmento espinal de la lesión, como de su intensidad.

Los casos de LTME afectan principalmente a la población económicamente activa. En México, se ha informado que la incidencia anual de traumatismos medulares en el D.F. es de aproximadamente 18.1 casos por millón de habitantes.

La mayoría de los daños, son causados por accidentes automovilísticos, caídas, actos de violencia o traumatismos en actividades deportivas y recreativas. Los costos iniciales de hospitalización son elevados, el cuidado médico subsecuente es caro y los índices de mortalidad y morbilidad son considerablemente altos, incluso en los centros especializados en la atención de pacientes con daño medular.

Debido a que el daño medular representa un problema médico y socioeconómico de gran magnitud, ha capturado el interés de diferentes disciplinas científicas y sociales, requiriendo para su estudio de la intervención de grupos multidisciplinarios y tecnología especializada.

Actualmente no se cuenta con ninguna estrategia terapéutica efectiva para restablecer la función neurológica normal, debido a la complejidad para regular los mecanismos que se desencadenan en el daño secundario (posterior a la lesión), así como a la baja capacidad de regeneración espontánea que se observa en el SNC maduro. Sin embargo; pese a que durante años había dudas ante la perspectiva de poder desarrollar un tratamiento efectivo para aminorar las serias dificultades que presentan los pacientes con LTME, en el presente el desarrollo de dichos tratamientos ha tenido grandes beneficios, ya que han existido diversos avances en diagnósticos oportunos y modalidades de tratamiento que en conjunto con el incremento en la disponibilidad y uso de antibióticos han disminuido la mortalidad en los casos de lesión medular como consecuencia de diversas complicaciones, entre ellas, las fallas renales e infecciones urinarias.

2.4.3 Síntomas y complicaciones en la LTME ^{8,12}

La lesión aguda de la médula espinal, produce de manera inmediata parálisis flácida y disminución de la sensibilidad y los reflejos por debajo del nivel de la lesión.

Aparte de la pérdida de movimientos voluntarios y sensibilidad, el daño medular produce importantes alteraciones sistémicas y metabólicas que pueden involucrar no solo complicaciones que amenazan la vida, sino retrasar la rehabilitación e

interferir con la terapia farmacológica; así mismo, se presentan trastornos de la función del sistema cardiovascular, gastrointestinal, renal, endocrino e inmune a corto y a largo plazos.

En el caso particular de la función renal cabe mencionar que con el daño agudo, disminuye el flujo plasmático renal en forma significativa, siendo más bajo en personas tetraplégicas que en parapléjicas, y peor en mujeres y pacientes ancianos que en hombres y pacientes jóvenes. Se incrementa la depuración renal en los primeros dos años después del daño medular y decrece después. Sin embargo, la función renal es preservada en forma adecuada en la mayoría de las personas; siendo un bajo porcentaje, el de pacientes que sufren deterioro que va de moderado a severo de esta función y que se asocia con patologías concomitantes como reflujo vesicouretral, cálculos renales y úlceras recurrentes en decúbito.

Por otro lado, la disreflexia autónoma es una complicación importante en los pacientes con LTME, que se inicia en 1 a 3 meses posteriores a la lesión. Se caracteriza por episodios transitorios de hipertensión arterial que son desencadenados por la dilatación vesical o rectal y por otros estímulos de naturaleza diversa.

Así, en forma general cuando se presenta un daño de la médula espinal, nos encontramos con:

- Hospitalizaciones largas y frecuentes
 - Mayor posibilidad de infecciones prehospitarias
 - Movilidad reducida
 - Úlceras en decúbito
 - Control involuntario de la vejiga y el intestino
 - Infecciones en la zona urinaria
 - Piedras en el riñón
-

- Espasmos musculares
- Pérdida de sensibilidad, tacto, dolor y temperatura
- Función respiratoria deteriorada

El estado físico es irreversible, pero el funcionamiento y la calidad de vida pueden mejorar mucho con fisioterapia y terapia ocupacional.

2.4.4 Fenómenos fisiopatológicos después de una LTME ^{9-10, 12-13, 16}

Inmediatamente después del daño medular, se suscitan diversos cambios tratando de mantener la homeostasis debido a que está severamente comprometido el componente simpático. Además del daño por sí mismo, los mecanismos compensatorios podrían cambiar radicalmente la fisiología normal del individuo lesionado, lo cual está siendo ampliamente estudiado en las investigaciones sobre lesión medular.

La alteración en la fisiología humana causada por una LTME es amplia e involucra a la mayoría de los órganos. De hecho, el daño medular inducido por un traumatismo consecuencia de un agravio físico inicial, implica un proceso subsecuente de daño progresivo que involucra varios eventos químico – patológicos asociados frecuentemente con complicaciones que amenazan la vida del paciente tanto en la fase aguda, como en la crónica de la lesión.

En general, un patrón de disfunción y actividad regulatoria están presentes, y es muy poco probable la posibilidad de encontrar pacientes con niveles de daño idénticos, quienes sin embargo, luego de un cuidadoso escrutinio, tienen fisiopatologías similares cuantitativamente.

Así pues, las anormalidades tanto hemodinámicas como en la motilidad gastrointestinal o en la cinética biliar y arritmias cardíacas que son complicaciones que están entre los numerosos desórdenes que pueden influir en la disposición de

fármacos, son comunes particularmente en la etapa aguda de la lesión, esto implica la necesidad de un tratamiento farmacológico.

La permanencia de muchos de los cambios endocrinos y metabólicos en el daño medular, da una perspectiva de la magnitud de la fisiopatología de la lesión así como de su potencial para influir en la disposición de fármacos y su metabolismo.

Una teoría involucrada en un estudio intenso en laboratorios de fisiopatología del daño o trauma medular con ratas modelo de lesión, establece que hay un daño secundario de la médula espinal que sigue al trauma inicial. Se ha llegado a un consenso general que indica que el daño medular está acompañado por un dramático decremento en el flujo sanguíneo medular, especialmente en la materia gris que conlleva al desarrollo de isquemia (anemia local) como consecuencia de los disturbios micro circulatorios debidos al daño celular endotelial.

Aunque el mecanismo preciso del daño secundario no es completamente conocido, se sabe que conlleva a una necrosis progresiva y a una disfunción motora, e incluso diversos hallazgos experimentales sugieren que el daño vascular juega un papel mayor, de hecho está bien documentada la alteración de la función celular endotelial cuya naturaleza progresiva lleva a un incremento de la permeabilidad vascular y a la formación de edema que implica un deterioro del flujo sanguíneo medular y una hipoperfusión retardada continua al proceso de daño secundario.

Por otra parte, un estudio de la distribución extra vascular de albúmina con respecto a la intra vascular reportó que fue mayor la cantidad de albúmina extra vascular en pacientes parapléjicos que en sujetos sanos control, lo cual puede atribuirse al daño en el fluido linfático, a la baja presión osmótica coloidal intra venosa y a una relación de presión alterada entre los espacios intra y extra vasculares.

Así pues, la pérdida de control autonómico y la subsiguiente insuficiencia venomotoras con estancamiento venoso periférico, son factores que promueven la redistribución de fluidos a través de las paredes capilares y causan una expansión del fluido extracelular. En tanto que el flujo sanguíneo vascular se considera como la más importante variable hemodinámica en el mantenimiento de la perfusión tisular, al estar alterado puede involucrar a órganos específicos causando isquemia y posible daño del órgano, lo cual implica que los disturbios sistémicos y metabólicos así como las alteraciones farmacocinéticas después del daño medular pueden estar relacionados con estos cambios. Así, se demuestra que el daño celular endotelial juega un papel importante en el daño vascular post – lesión medular.

Por lo hasta ahora mencionado, se entiende que el daño medular no es un estado estático, ya que el daño primario debido al trauma mecánico es seguido por un daño secundario que incrementa el daño neural original. Este daño secundario ha sido atribuido a la presencia de múltiples sustancias tóxicas endógenas liberadas por las neuronas dañadas dentro del área de la lesión así como a la interrupción de la micro circulación.

Las consecuencias principales de la desconexión de los centros espinales autonómicos del control cerebral incluye entre otras: disfunción de los sistemas cardiovascular, gastrointestinal, renal, endocrino e inmune.

De modo que, un mejor entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos involucrados en alteraciones sistémicas y metabólicas después del daño medular es de gran utilidad para el manejo apropiado del paciente y para la optimización de la terapia farmacológica en la población que presente este padecimiento. Así pues, los estudios farmacológicos tanto en humanos como en modelos experimentales de lesión medular deben de ser usados no solo para optimizar la dosificación de fármacos en esta condición, sino también para descifrar los

mecanismos fisiopatológicos involucrados en la disfunción autonómica después de la lesión medular.

2.4.5 Alteraciones farmacocinéticas en la LTME ¹⁴⁻¹⁹

Las víctimas de lesión medular son expuestas a un amplio número de terapias farmacológicas durante el periodo inmediato post – lesión y en el transcurso de sus vidas. La escala fisiopatológica de las lesiones medulares influye en la disposición de los fármacos además de que puede predisponer a los pacientes a reacciones adversas o desventuras terapéuticas a menos que se establezca un régimen de dosificación adecuado.

El objetivo del análisis farmacocinético de una población, es caracterizar la localización y variación del comportamiento farmacocinético para miembros de la población de interés. Idealmente esta información será usada para asegurar que las diferentes estrategias de dosificación desarrolladas son para aquellas poblaciones que las requieren.

Si bien es cierto que los procesos fisiopatológicos involucrados en la alteración de las farmacocinéticas de diversos fármacos aún no son entendidos completamente, se ha comprobado que están presentes en pacientes con daño medular y, debido a la dificultad para realizar estudios sistemáticos a causa de la amplia variabilidad interindividual en la localización y la extensión de la lesión así como por razones metodológicas y éticas, se recurre a modelos experimentales que han resultado ser una alternativa disponible para el estudio de los cambios farmacocinéticos subsecuentes al daño medular así como para la caracterización de los disturbios fisiológicos involucrados.

Aunque está documentado que la farmacocinética de muchos fármacos es alterada en sujetos con daño medular, relativamente pocos estudios tratando con farmacocinética se han realizado en pacientes con este problema. Además los mecanismos de acción involucrados en las alteraciones de la absorción,

distribución, metabolismo y eliminación de fármacos en el daño medular están lejos de ser completamente entendidos.

Los resultados de un estudio realizado en ratas mostraron que la contusión medular produce una reducción importante de la biodisponibilidad oral del paracetamol, siendo más bajos los niveles circundantes y habiendo una reducción altamente significativa en los parámetros de biodisponibilidad de concentración máxima (C_{max}) y área bajo la curva (AUC) en ratas lesionadas con respecto a las ratas usadas como control. Además hubo una tendencia con una mayor vida media aunque no alcanzó significancia estadística en las ratas lesionadas. Estos resultados sugieren que la biodisponibilidad reducida del paracetamol se debió a una absorción alterada del tracto gastrointestinal (TGI) y no a una eliminación aumentada.

Por lo tanto, el daño medular puede cambiar la cinética de absorción, distribución y eliminación de fármacos. Se ha reportado que las farmacocinéticas de muchos fármacos tales como: paracetamol, teofilina, dantroleno, aminoglicósidos y lorazepam son alteradas significativamente en pacientes con daño medular en comparación con sujetos sanos.

En el caso particular de los aminoglicósidos como la gentamicina, un antibiótico que se administra frecuentemente para tratar serias infecciones bacterianas gram (-) en pacientes con y sin lesión medular, tales como infecciones urinarias y del nervio auditivo, se han obtenido resultados que confirman que los pacientes con daño medular tienen un volumen de distribución (V_d) mayor para aminoglicósidos en comparación con pacientes sin lesión. Tales hallazgos pueden ser el resultado de una expansión del volumen de fluido extracelular causado por extravasación de las proteínas plasmáticas en el espacio intersticial, por un encharcamiento sanguíneo periférico asociado con un tono venomotor disminuido y por la pérdida de masa muscular.

Un comportamiento similar se observó en el estudio farmacocinético de amikacina, un antibiótico aminoglicósido semisintético que también se utiliza ampliamente en la LTME por tratarse de una molécula más sencilla que la gentamicina y que presenta menor variación farmacocinética intra e interindividual. El volumen de distribución (V_d), es 20% mayor en pacientes con daño medular crónico que en sujetos sanos control. La etiología para esta observación probablemente es la misma que la postulada para explicar el aparente incremento en el mismo parámetro farmacocinético para la gentamicina, lo cual se observó en similares poblaciones en estudio.

Por otra parte, la lesión medular también causa alteraciones en la biodisponibilidad del salicilato después de la administración oral de aspirina, reduciendo significativamente la C_{max} , lo que sugiere que el daño medular decrece la velocidad de absorción de aspirina y que es consistente con la tendencia observada para con una reducción en la C_{max} del ácido acetilsalicílico (ASA) y con la prolongación del tiempo máximo (t_{max}) en animales con daño medular tanto para ASA como para el ácido salicílico (SA). Sin embargo, la extensión de la absorción de la aspirina no fue afectada significativamente por el daño medular, sugiriendo por tanto que este induce alteraciones en la biodisponibilidad de aspirina concerniente principalmente a la velocidad de absorción. Parece por lo tanto, que el efecto del daño medular sobre la biodisponibilidad oral del paracetamol es más pronunciado que para la aspirina, aunque ambos compuestos son clasificados como antiinflamatorios no esteroideos. Estas diferencias son debidas probablemente a los distintos mecanismos fisiológicos de absorción para cada uno de estos fármacos. El paracetamol se absorbe en el duodeno, proceso dependiente del vaciamiento gástrico y hay evidencia de que éste es afectado por el daño medular, probablemente por una estimulación de la liberación del óxido nítrico (un potente vasodilatador), resultando en una inhibición de la motilidad gastrointestinal. Por otra parte, la aspirina es un fármaco ácido y por lo tanto se absorbe en el estómago. En consecuencia, la absorción de la aspirina no depende del vaciamiento gástrico; por tanto, la extensión de la absorción de este fármaco

está menos afectada por la lesión medular. Es sabido que las disfunciones autonómicas siguientes al daño medular pueden resultar en vasoconstricción local, reduciendo el flujo sanguíneo intestinal y por tanto la transferencia del fármaco desde el lumen intestinal a la circulación podría estar importantemente disminuida. Así, el efecto de la LTME sobre la absorción de aspirina del TGI es menos pronunciada que sobre la del paracetamol.

Un decremento significativo en la fracción absorbida de teofilina se observó después de la administración oral de 7.5% de una solución hidroalcohólica en sujetos tetraplégicos en comparación con los parapléjicos y los controles. Se sugiere que el decremento de la biodisponibilidad oral de la teofilina en pacientes tetraplégicos demostrada en este estudio es atribuible a un vaciamiento gástrico alterado, mismo que influye directamente el AUC del curso temporal de la concentración plasmática del fármaco después de la administración oral y la cual caracteriza una alta mielopatía. De tal forma que el decremento clínico de la biodisponibilidad oral de la teofilina podría causar una sobreestimación de la carga oral y del mantenimiento de la dosis, resultando en fallas terapéuticas.

En otro estudio, los resultados muestran que la farmacocinética de la ciclosporina A (CsA) se modifica en forma relevante por el daño medular y que tales alteraciones dependen de la ruta de administración incrementándose la biodisponibilidad del fármaco en cuestión cuando se administra por una ruta parenteral, pero reduciéndose en forma relevante cuando se da por vía oral.

Al existir la posibilidad de transplantar tejido nervioso como una terapia para el daño medular, la CsA puede ser muy útil para limitar la respuesta autoinmune generada contra antígenos neurales misma que se ha sugerido, ocurre después de la lesión medular. Sin embargo, la respuesta inmunosupresiva producida por CsA depende de la concentración circulante del fármaco, por lo tanto dichos niveles deben ser mantenidos dentro del rango terapéutico, siendo inefectivos los valores bajos mientras que los altos conllevan a la toxicidad. Así, es bien sabido

que la biodisponibilidad de la CsA exhibe una importante variabilidad interindividual y que es alterada por estados fisiopatológicos. De modo que, al ser sugerido que está involucrada una sensibilización del sistema inmune contra antígenos neurales en el daño tisular posterior a la lesión medular, la acción inmunosupresiva de la CsA por sí misma podría ser de valor en el tratamiento de este problema.

Los efectos de la lesión medular sobre la farmacocinética de fármacos, no han sido completamente estudiados y los mecanismos fisiopatológicos involucrados no son entendidos totalmente. Las alteraciones fisiológicas después del daño medular dependen de la localización, intensidad y del lapso de tiempo después de la lesión. En resumen, el tratamiento farmacológico de pacientes con lesión medular puede resultar inefectivo o tóxico como resultado de cambios farmacocinéticos si el fármaco es administrado a niveles de dosificación usados en pacientes sin lesión.

Así, mientras que para ciertas condiciones patológicas tales como falla renal y hepática, los regímenes de dosificación son establecidos usualmente sobre una base racional de datos farmacocinéticos, la dosificación de fármacos tanto a nivel clínico como experimental del daño medular está realizada frecuentemente sobre fundamentos empíricos.

2.5 Las quinolonas y su mecanismo de acción ²⁰⁻²²

Los agentes antimicrobianos en medicina, son la principal herramienta terapéutica en el control y tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas. Las quinolonas son agentes especialmente útiles para el tratamiento de las infecciones de vías urinarias, tubo digestivo, ciertas enfermedades de transmisión sexual e infecciones óseas. Por lo general, son bien toleradas y causan pocos efectos adversos.

Las quinolonas son análogos del primer agente desarrollado conocido como ácido nalidíxico, con la diferencia de que las nuevas quinolonas son substancialmente mas potentes in vitro y tienen un amplio espectro antibacteriano, manteniendo la propiedad favorable de absorberse adecuadamente después de la administración oral. Estos nuevos agentes tienen propiedades farmacocinéticas adicionalmente ventajosas, incluyendo tiempos de vida media relativamente altos en suero, permitiendo generalmente una administración más espaciada durante el día, tienen además una excelente penetración en muchos tejidos así como permeación dentro de las células humanas, resultando en una actividad antimicrobiana contra patógenos intracelulares.

El ácido nalidíxico y todas las quinolonas conocidas actualmente son sintéticos, y no han sido identificados compuestos relacionados estructuralmente como productos de organismos vivientes. Se han sintetizado y evaluado más de un millar de quinolonas y análogos para la actividad antimicrobiana, incluyendo compuestos con sustituciones y adiciones a muchas partes de la molécula base.

Las quinolonas suelen ser menos activas que otros agentes contra microorganismos grampositivos como estreptococos y estafilococos, y en general no tienen actividad contra microorganismos anaerobios. Las que se prescriben con más frecuencia son la ciprofloxacina, la norfloxacina, la enoxacina, el ácido nalidíxico y la lomefloxacina.

Las quinolonas actúan al inhibir la actividad de la enzima bacteriana conocida como DNA girasa. Esta enzima es indispensable para el superenrollamiento de la cadena de DNA del microorganismo. El superenrollamiento es un paso necesario en la replicación del DNA bacteriano. Las quinolonas no solo impiden este proceso, sino que también parecen tener un efecto bactericida directo.

2.5.1 Ciprofloxacina

Un antibacteriano sintético, del grupo de las quinolonas, efectivo contra un amplio espectro de patógenos grampositivos y gramnegativos, es la ciprofloxacina, también conocida como fluoroquinolona porque contiene un átomo de fluoruro en la posición 6 del núcleo de 4 – quinolona. Por otra parte, esta molécula contiene un grupo piperazinil en la posición 7 el cual le confiere actividad antipseudomonal, y un grupo ciclopropil en la posición 1 mismo que le confiere una mayor actividad antimicrobiana. Lo antes mencionado se observa mejor en la estructura siguiente:

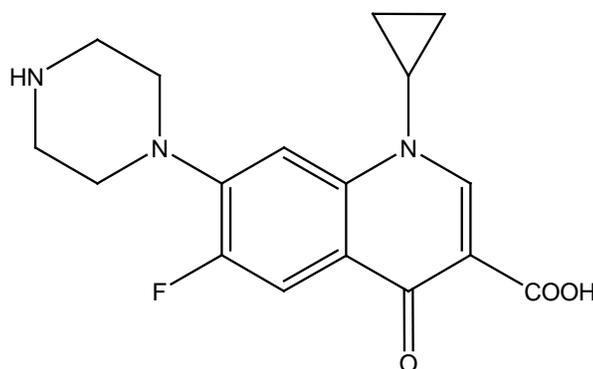


Figura 6. Estructura química de la ciprofloxacina

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

Formula condensada: $C_{17}H_{18}FN_3O_3$

Peso Molecular: 331.35 g /mol.

Contiene no menos del 98.0 y no más del 102.0 por ciento de ciprofloxacino clorhidrato, calculado como referencia a la sustancia seca.

2.5.2 Descripción y solubilidad

La ciprofloxacina, 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.

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 ciprofloxacina hidrociorada con un pH de 1.5 – 7.5 son estables por un lapso de 14 días a temperatura ambiente.

2.5.3 Indicación terapéutica y usos

La ciprofloxacina usualmente tiene acción bactericida que al igual que otras quinolonas inhibe a la DNA topoisomerasa referida como DNA – girasa en organismos susceptibles, con lo que disminuye el riesgo de resistencia bacteriana, ya que, esta enzima es necesaria para la replicación del DNA y para algunos aspectos de transcripción, reparación, recombinación y transposición.

Algunos estudios indican que este antimicrobiano puede tener actividad bactericida tanto en la fase logarítmica como en la fase estacionaria del crecimiento de los microorganismos patógenos; efecto que parece no ocurrir con bacterias grampositivas como por ejemplo: *Staphylococcus aureus*.

Dentro de los principales usos terapéuticos de la ciprofloxacina se encuentran; infecciones del tracto genitourinario: uretritis complicadas y no complicadas, cistitis, pielonefritis, prostatitis, epididimitis y gonorrea. Infecciones de las vías respiratorias: bronquitis aguda, reagudización de bronquitis crónica, fibrosis quística, bronquiectasia y empiema. Infecciones osteoarticulares: artritis infecciosa y osteomielitis, etc. Infecciones de la piel y tejidos blandos: úlceras, quemaduras y heridas infectadas, abscesos, entre otras.

La acción de la ciprofloxacina alcanza el siguiente espectro bacteriano:

Organismos grampositivos: *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*. Moderadamente sensibles: *S. faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Chlamydia trachomatis*.

Organismos gramnegativos: *Escherichia coli*, *Klebsiellas Pneumoniae* y *oxitoca*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwarsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis* y *vulgaris*, *Providencia stuartii* y *rettgeri*, *Morganella morganii*, *Serratia*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Haemophilus influenzae* y *ducreyi*, *Neisseria gonorrhoeae* y *meningitidis*, *Branhamella catarrhallis*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Brucella melitensis*, *Pasteurella multocida* y *legionella*.

2.5.4 Farmacocinética y farmacodinamia en humanos

La ciprofloxacina se distribuye ampliamente dentro de los tejidos corporales y fluidos después de una administración oral o intravenosa. Altas concentraciones del fármaco son alcanzadas generalmente en bilis, pulmones, riñones, hígado, vesícula biliar, útero, tejido y fluido prostático, amígdalas, endometrio, trompas de Falopio y ovarios. De hecho, las concentraciones del fármaco alcanzadas en la mayoría de estos tejidos y fluidos exceden a las séricas. La ciprofloxacina también se distribuye en hueso, humor acuoso, esputo, saliva, secreciones nasales, piel, músculo, tejido adiposo, cartílago, en fluido pleural, peritoneal, linfático y renal.

La absorción por vía oral es de 95% en dos horas y de 100% en tres horas; ofrece una biodisponibilidad del 70% y sus concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan aproximadamente una hora después de su administración. Las concentraciones séricas son del rango de 0.76 a 2.5 µg /mL. Ofrece un alto volumen de distribución y como ya se mencionó, alcanza concentraciones muy superiores a las séricas en diversos tejidos y líquidos. La vida media independientemente de la dosis en adultos con función renal normal es alrededor de 3 – 5 horas.

La ciprofloxacina se une a las proteínas plasmáticas en un 30%, se elimina principalmente por vía renal por filtración glomerular y secreción tubular como ciprofloxacina sin cambios y (al ser parcialmente metabolizada por el hígado mediante modificaciones en el grupo piperazinil), en forma de sus cuatro

metabolitos activos (oxiciprofloxacina, sulfociprofloxacina, desetilciprofloxacina y formilciprofloxacina). Estos metabolitos tienen actividad microbiológica que es menor que la del fármaco original, pero que puede ser similar o mayor a la de algunas otras quinolonas. También puede ser eliminada por el sistema hepático biliar cuando alguno de los dos primeros mecanismos no tuviera una función correcta.

Para infusión intravenosa se alcanzan concentraciones plasmáticas de 1.5 a 3.1 µg /mL para las dosificaciones de 100 y 200 mg respectivamente. Después de la infusión intravenosa, 75% de la dosis administrada se elimina por la orina y 14% por las heces. Más del 90% de la sustancia activa es eliminada durante las 24 horas siguientes a su administración.

2.6 Cromatografía²³⁻²⁵

2.6.1 Definición

La cromatografía es una técnica desarrollada a principios de siglo 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 o líquido y retenidos selectivamente por una fase estacionaria que puede ser un sólido o un líquido. De hecho, la separación se lleva a cabo en una columna rellena con un sólido poroso, el cual puede actuar como fase estacionaria propiamente tal, o como soporte de una fase líquida estacionaria.

2.6.2 Clasificación de la cromatografía

Existen diferentes técnicas cromatográficas y distintas formas de clasificarlas, una de las clasificaciones más comunes se basa en el tipo de fase móvil utilizada, que puede ser un líquido o un gas, lo cual se aprecia mejor en el esquema siguiente:

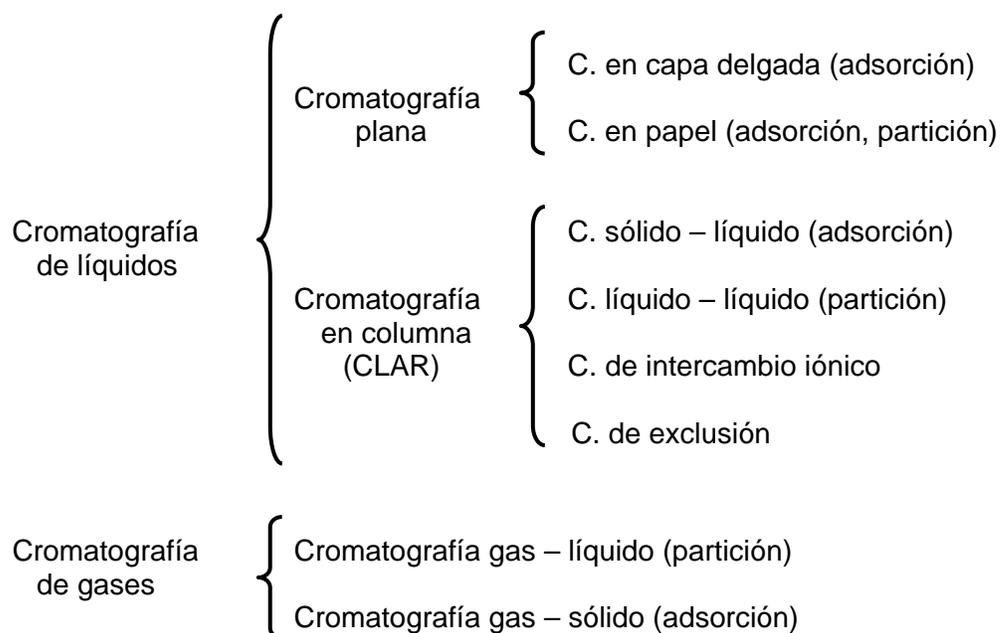


Figura 7. Clasificación de la cromatografía con base en el tipo de fase móvil utilizada.

Sin embargo, otra clasificación igualmente útil, considera las polaridades tanto de la fase móvil como de la fase estacionaria, dividiendo a la cromatografía en dos tipos: en fase normal y en fase reversa, siendo esta última la más comúnmente utilizada puesto que al emplear una fase estacionaria del tipo octadecilsilano y una fase móvil polar que permite el uso de mezclas de disolventes tales como: agua, metanol y acetonitrilo (menos tóxicos), resulta ser más barata.

2.6.3 Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)

La cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) también conocida como cromatografía de líquidos de alta presión HPLC por sus siglas en inglés, implica el uso de columnas de un diámetro muy reducido por ejemplo, 2 mm, rellenas de materiales pulverulentos especiales, donde el tamaño de las partículas es no mayor de 30 – 40 nm. Pese a que las características de la columna la hacen de gran eficacia, ésta ofrece una alta resistencia al flujo de la fase móvil, lo cual hace necesario el uso sistemas de bombeo de alta presión, motivo por el cual se conoce también como HPLC a esta técnica cromatográfica.

La instrumentación requerida para realizar una CLAR (Figura 8), consta de un recipiente (1) que contiene la fase móvil líquida que consiste en una mezcla de disolventes, un sistema de bombeo de alta presión (2) que impulsa la fase móvil a través de una columna (5) empacada con la fase estacionaria, previo paso por un sistema medidor y controlador de los cambios de presión (3) y una válvula inyectora de la muestra (4) ya sea manual o automática. A la salida de la columna se requiere de un detector (6) 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 (7).

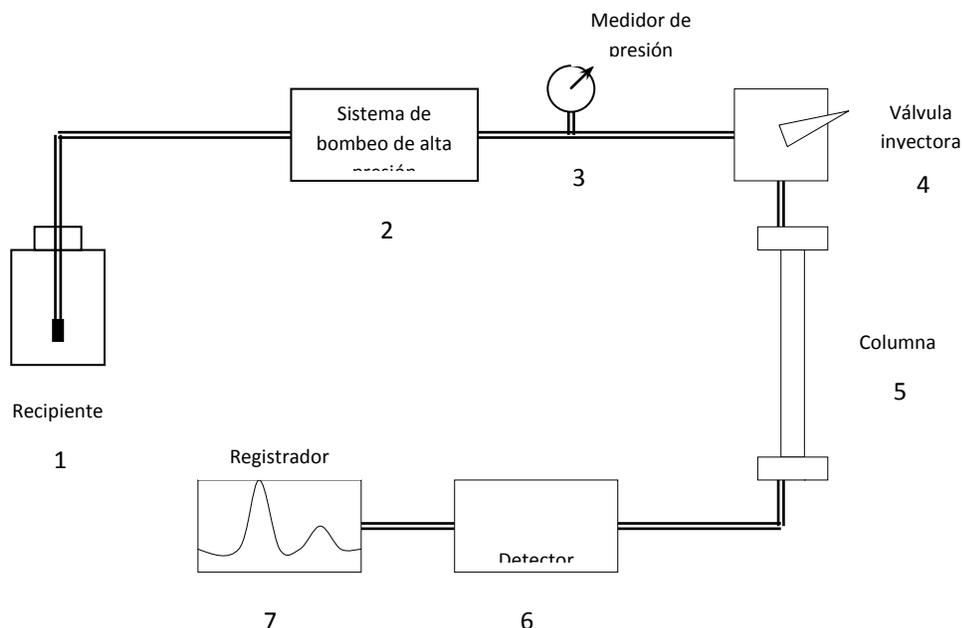


Figura 8. Partes básicas de un cromatógrafo de líquidos.

2.7 Validación de métodos analíticos ^{26 – 29}

Los métodos analíticos que se usan para la determinación cuantitativa de fármacos y sus metabolitos en muestras biológicas juegan un papel significativo en la evaluación e interpretación de datos de biodisponibilidad, bioequivalencia y farmacocinética. Así, es esencial el uso de métodos analíticos validados y bien caracterizados que arrojen resultados confiables que puedan interpretarse de forma satisfactoria.

2.7.1 Definición

En tanto que la validación como tal es entendida como la evidencia documentada mediante la cual se asegura que un proceso o método cumple eficientemente el objetivo para el que fue creado, la validación de métodos analíticos puede definirse como el proceso mediante el cual se asegura de forma documentada que un método analítico cumple con el fin para el que fue creado, lo que implica demostrar que el método es lineal, preciso, exacto, reproducible y

específico, los cuales son algunos de los parámetros que a continuación se describen .

2.7.1.1 Linealidad

La linealidad de un método analítico, es su habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o mediante una transformación matemática son proporcionales a la cantidad del analito dentro de un intervalo dado de concentraciones.

Este parámetro se determina mediante una curva estándar o curva de calibración la cual debe prepararse en la misma matriz biológica que las muestras en estudio con concentraciones conocidas del analito.

Se deben cumplir las siguientes condiciones en el desarrollo de la curva de calibración:

- 20% de desviación en el límite de cuantificación a partir de la concentración nominal.
- 15% de desviación de otros estándares a partir de la concentración nominal.

2.7.1.2 Precisión

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el método se aplica repetidamente a varias alícuotas de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos de coeficiente de variación y se divide en:

- a) Repetibilidad. Es la precisión de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizada bajo las mismas condiciones de operación, en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.

Se determina con un mínimo de tres concentraciones conocidas: baja, media y alta, mismas que deben ser diferentes a las de la curva de calibración y estar incluidas en ésta. El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15% en métodos cromatográficos.

b) Reproducibilidad. Es la precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo condiciones distintas en lo referente al analista, a los días, y que bien puede ser en el mismo y /o en diferentes laboratorios, usando el mismo y /o diferentes equipos como resultado de estudios Interlaboratoriales diseñados para estandarizar la metodología.

El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15% en métodos cromatográficos.

2.7.1.3 Exactitud

La exactitud de un método representa la cualidad de concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Este parámetro debe determinarse en todo el intervalo especificado para el método analítico.

El valor promedio está dentro del 15% del valor actual excepto en el límite de cuantificación donde no tiene que desviarse más del 20%.

2.7.1.4 Especificidad

Es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente a la sustancia de interés, evaluando inequívocamente el analito en presencia de otros componentes que se puede esperar que estén presentes, tales como impurezas, productos de degradación, los componentes de la matriz, etc.

2.7.1.5 Estabilidad de la muestra

Es la propiedad de una muestra analítica preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.

Para que el o los compuestos de interés se consideren estables en las diferentes condiciones evaluadas, los resultados obtenidos deben cumplir los criterios de exactitud y repetibilidad antes mencionados.

2.7.1.6 Límite de cuantificación

Es la mínima cantidad del analito en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones de operación establecidas.

El estándar inferior de la curva de calibración es aceptado como límite de cuantificación de acuerdo a las siguientes condiciones:

- La respuesta del analito en el límite de cuantificación es mínimo cinco veces mayor comparado con la respuesta del blanco.
- El pico del analito (respuesta) debe ser identificable, discreto y reproducible con una precisión del 20% y exactitud del 80 – 120%.

Se considera que el punto tiene validez como límite de cuantificación si su valor promedio cae dentro del $\pm 20\%$ del valor nominal con un coeficiente de variación no mayor que 20% para métodos cromatográficos.

2.7.1.7 Límite de detección

Es la mínima cantidad de analito que puede ser detectada (y no necesariamente cuantificada) en una muestra bajo las condiciones de operación establecidas.

2.7.1.8 Tolerancia

La tolerancia de un método analítico, es una medida de su capacidad de no verse afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proporciona información de su confiabilidad. Tales modificaciones pueden ser por ejemplo: pH, la proporción de la fase móvil, longitud de onda, temperatura, etc. Las modificaciones que se consideren, deben ser las que cumplan con los criterios de exactitud y precisión antes mencionados.

Considerando que todos los métodos analíticos empleados para la cuantificación de muestras biológicas de un estudio de bioequivalencia deben ser validados en el sitio de análisis y para el propósito, es necesario aclarar que el método utilizado en el presente proyecto para la cuantificación de ciprofloxacina en plasma de primate, fue previamente validado como parte de un proyecto de tesis²⁹. Con lo que se establece que los resultados obtenidos del estudio farmacocinético del fármaco en cuestión son seguros y confiables.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La LTME es un trastorno que causa cambios en la farmacocinética de fármacos en el organismo, como consecuencia de importantes alteraciones sistémicas y metabólicas, que están relacionadas con cambios en la composición corporal, así como con la capacidad motora y la subsiguiente atrofia muscular.

Estudios clínicos han permitido identificar que como resultado de la disfunción autónoma en una lesión medular, se alteran diversos parámetros farmacocinéticos, sugiriendo que en sujetos con este tipo de padecimiento, los fármacos administrados diseñados con esquemas para sujetos neurológicamente íntegros, pueden no alcanzar concentraciones suficientes para ejercer su acción, dependiendo del fármaco y vía de administración. En el caso de la administración intravenosa, el conocer los mecanismos que participan en la distribución, metabolismo y excreción de fármacos es importante para pacientes con LTME, especialmente si tenemos en cuenta que los cambios en cualquiera de estos procesos pueden afectar de manera importante la duración de la acción del fármaco o bien el grado de su toxicidad.

Se han realizado una variedad de investigaciones en un esfuerzo para desarrollar modelos animales que puedan simular lo más cercanamente posible la naturaleza del daño medular en humanos y ayudar en las estrategias de los tratamientos para pacientes con esta afección. Por la enorme variabilidad clínica que esta presente en una lesión medular, los modelos experimentales de LTME se presentan como una alternativa factible para el estudio sistemático de las alteraciones farmacocinéticas debidas a este trastorno y para entender los mecanismos involucrados en el mismo. Usando un modelo experimental de LTME en estado agudo a nivel T8 – T9 en ratas, se han descrito alteraciones farmacocinéticas del paracetamol, tales como disminución significativa en los parámetros C_{max} y AUC, además de diferencias aunque no significativas en t_{max} y $t_{1/2}$. Lo que implica que la biodisponibilidad oral del fármaco estudiado es importantemente reducida en el daño medular.¹⁵

Para tratar de evidenciar estas alteraciones en un modelo experimental más complejo con el fin de que puedan extrapolarse con mayor certeza a los cambios fisiológicos suscitados en humanos, se planteó evaluar si la farmacocinética de la ciprofloxacina (antibiótico comúnmente utilizado en pacientes con lesión medular), evaluada antes y después de una LTME aguda obtenida por un método por compresión propuesto e implementado por el centro de Investigación Camina en mono rhesus a nivel de la vértebra torácica T9, se encuentra alterada.

Cabe señalar que el estudio farmacocinético antes mencionado, es sólo una parte de los distintos objetivos que se persiguen evaluar en el centro de Investigación Camina, entre los cuales se encuentran: caracterizar las alteraciones hemodinámicas, hematológicas y químicas, así como las alteraciones inmunológicas y, mediante estudios morfológicos se busca determinar la histopatología general de los primates sometidos a estudio.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

- ✓ Determinar la influencia de la lesión traumática de médula espinal en estado agudo a nivel de la vértebra T9 sobre la farmacocinética de la ciprofloxacina en mono rhesus *macaca mulatta*.

Objetivos Particulares

- ✓ Caracterizar la farmacocinética de la ciprofloxacina administrada por vía infusión intravenosa en mono rhesus *macaca mulatta*.
 - ✓ Determinar la farmacocinética de la ciprofloxacina administrada por vía infusión intravenosa en mono rhesus *macaca mulatta*, posterior a una laminectomía.
 - ✓ Determinar la influencia de la LTME en estado agudo a nivel T9 sobre la farmacocinética de ciprofloxacina administrada por vía infusión intravenosa en mono rhesus *macaca mulatta*.
-

V. HIPÓTESIS

La LTME es un trastorno que tiene severas implicaciones fisiopatológicas en las personas que la padecen, causando alteraciones en la disposición de fármacos en el organismo, por disfunciones en el sistema gastrointestinal, cardiovascular y renal (entre otras); por lo que una lesión medular a nivel de T9 en estado agudo provocada en mono rhesus causará alteraciones hemodinámicas que pudieran modificar en forma relevante la farmacocinética de medicamentos como la ciprofloxacina, un antibiótico cuyo uso es necesario para tratar las infecciones urinarias que son una complicación común en pacientes con LTME y cuya eliminación se realiza en forma predominante por la vía renal.

VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

✓ Población de Estudio.

Se usaron dos primates del tipo mono rhesus (*Macaca mulatta*), machos que pesaron entre 5 y 7 Kg, cuyas edades estuvieron en el rango de 3 a 10 años.

✓ Criterios de Inclusión y Exclusión

Inclusión:

Primates no humanos sanos, de la especie requerida, en el intervalo de peso y edad mencionados, física y clínicamente sanos.

Exclusión:

Reacciones adversas al medicamento al momento de su administración en la cinética pre – intervención quirúrgica.

Que la LTME no sea completa ni permanente después del proceso quirúrgico.

✓ Variables

Tipo de lesión:

Por compresión medular.

Grado de lesión:

Completa severa, generada por compresión medular que se logra inflando un globo epidural en la médula del primate a nivel de la vértebra torácica T9.

6.1 Material

- Vasos de precipitado de distintas capacidades
- Pipetas volumétricas de 1.0 mL
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
- Matraces volumétricos de 5, 10, 200, 250 y 1000 mL
- Probetas graduadas de 500 y 1000 mL
- Pipetas semiautomáticas eppendorf
- Tubos eppendorf
- Papel glassin
- Espátula de acero inoxidable
- Frascos de plástico de 20 mL
- Jeringas de 10 mL
- Tubos de Ensayo de 13 X 18 cm
- Gradilla

6.2 Reactivos

- Acetonitrilo J.T. Baker lote Y46C726M
- Ciprofloxacina Clorhidrato. Estándar secundario lote 6700047004
- Enrofloxacin estandar secundario lote 04-02-6017
- Trietilamina Productos Químicos Monterrey lote 005136
- Ácido perclórico Baker Analizad. S /L Fecha de caducidad enero 2007.
- Metanol JT Baker grado HPLC, varios lotes.
- Ácido fosfórico 85% grado HPLC. Fisher Scientific lote 872923
- Heparina varios lotes.
- Tiras indicadoras de pH, Merk lote OC317128
- Plasma de dos primates no humanos antes y después de una intervención quirúrgica determinada.

6.3 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 26 KM.
- Equipo desionizador de agua System MILLI-Q water MILLIPORE
- Cromatógrafo de líquidos waters
 - Detector waters 486
 - Bomba waters 510
 - Inyector manual
- Columna Zorbax SB-C18 4.6 x 75 mm 3.5 micras.
- Silla de contención para los primates sometidos a estudio
- Catéter fogarty edwards para embolectomia de doble lumen calibre 6 FR, longitud 80 cm. con capacidad de inflado del balón de 1-4 mL de líquido.
- Catéteres de polietileno del no. 20
- Equipo de venoclisis
- Cronómetro

6.4 Parte experimental

6.4.1 Manejo de los primates sometidos a investigación

6.4.1.1 Antes del tratamiento quirúrgico.

- a. Confinamiento: los primates no humanos previamente adiestrados para el estudio (dos semanas antes), con un ayuno de 12 horas, se colocaron en una silla de contención para el estudio farmacocinético. Se canalizaron, para la toma de muestra y administración del fármaco, una de las venas de cada una de las extremidades superiores, usando un catéter de polietileno del no. 20.

- b. Administración del fármaco: la ciprofloxacina se administró por infusión intravenosa en dosis de 10 mg/Kg de peso, por un intervalo de 30 minutos, a través de un equipo de venoclisis.
- c. Toma de muestra: se tomaron muestras de 1.0 a 1.5 mL de sangre, antes de la administración del fármaco y a los tiempos de 7.5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480 y 600 minutos después de la administración de la ciprofloxacina. Las muestras fueron recibidas en tubos eppendorf para separar el plasma respectivo por centrifugación y una vez obtenido, mantenerlo en congelamiento a -20°C hasta el momento de su análisis.

6.4.1.2 Después del tratamiento quirúrgico.

- a. Anestesia: la anestesia general inhalatoria utilizada para cirugías mayores, consistió en el uso de tiletamina-zolacepam (Zoletil) como inductor para intubación endotraqueal (3mg/Kg) y se mantuvo con isoflurano al 2%. Se monitorearon sus constantes fisiológicas (frecuencia cardiaca F.C., frecuencia respiratoria F.R., tensión arterial T.A., temperatura y saturación de oxígeno) a través de un monitor cardiaco.
- b. Cirugía sin lesión medular: bajo condiciones estériles se realizó una incisión longitudinal a nivel de la vértebra torácica T11, hasta exponer la médula a través de una laminectomía realizada en la base de las apófisis espinosas y se suturó la herida.
- c. Cirugía con lesión, y cuidados: bajo condiciones estériles se realizó una incisión longitudinal a nivel de la vértebra torácica T11, hasta exponer la médula a través de una laminectomía. Se insertó un catéter Fogarty calibre 6 FR, con una guía rígida y se dirigió hacia la vértebra torácica T9 a través del espacio epidural. De esta manera el catéter quedó en el espacio epidural, en posición dorso-central respecto a la médula espinal y con el globo desinflado en la porción

central de T-9, mismo que se infló de manera súbita con el volumen de líquido previamente determinado, de tal manera que su diámetro fuera igual a la distancia antero-posterior del canal raquídeo (medido en cada animal con tomografía) para producir compresión medular aguda, Se dejó inflado durante 5 minutos, posteriormente se desinfló, se retiró el catéter y se suturó la incisión por planos anatómicos. Los primates se colocaron en jaulas individuales, vejiga e intestino se vaciaron en forma manual. Se alimentaron con pellets, frutas y semillas 2 veces al día, así como con agua ad libitum.

- d. Confinamiento: los primates no humanos ya intervenidos quirúrgicamente y con un ayuno de 12 horas, se colocaron en una silla de contención para el estudio. Se canalizaron para la toma de muestra y administración del fármaco, de la misma forma que antes de la lesión pero tomando los cuidados necesarios debido a su estado físico.
- e. Administración del fármaco: la ciprofloxacina se administró por infusión intravenosa en dosis de 10 mg/Kg de peso, por 30 minutos, a través de un equipo de venoclisis.
- f. Toma de muestra: se tomaron muestras de 1.0 a 1.5 mL de sangre, antes de la administración del fármaco y a los tiempos de 7.5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480 y 600 minutos después de la administración de la ciprofloxacina. Las muestras fueron recibidas en tubos eppendorf para separar el plasma respectivo por centrifugación, mismo que se congeló a -20°C hasta el momento de su análisis.

6.4.2 Preparación de la curva de calibración previa al estudio farmacocinético.

Antes de describir la preparación de la curva de calibración, se menciona a continuación la preparación de la solución madre de ciprofloxacina (analito) y enrofloxacin (estándar interno), así como de la solución de ácido perclórico:

- ✓ Solución madre: Se pesaron 20 mg. de ciprofloxacina estándar secundario y se llevó a una matraz volumétrico de 200 mL, se disolvió y aforó con fase móvil. Para obtener una concentración de 100 µg /mL. De esta solución se tomó una alícuota de 1 mL se llevó a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con plasma de primate, una tercera dilución de 5mL en un matraz aforado de 10 mL, fue necesaria para las primeras dos concentraciones de la curva estándar, mientras que los cuatro últimos puntos partieron de la segunda dilución. Así, la segunda y tercera diluciones tuvieron una concentración de 10 y 5 µg /mL respectivamente.

- ✓ Solución Estándar Interno. Se pesaron 20 mg de enrofloxacin estándar secundario y se llevo a un matraz de 200 mL, se disolvió y aforó con fase móvil. Esta solución tuvo una concentración de 100 µg /mL.

- ✓ Solución de ácido perclórico al 6.0 %: Se midieron 4.1 mL de ácido perclórico y se llevaron a un matraz de 50 mL diluyendo hasta el aforo con agua y se agitó.

Curva de calibración.

El intervalo de concentraciones de ciprofloxacina para la curva de calibración constó de seis puntos: 0.15, 0.30, 0.70, 1.4, 2.0 y 2.4 µg /mL y la concentración utilizada de estándar interno fue de 4.0 µg /mL.

A seis tubos eppendorf se adicionaron 100 µL de plasma de primate, a cada tubo se le adicionaron 20 µL de la solución de estándar interno, posteriormente se adicionaron a cada tubo alícuotas de 15 y 30 µL procedentes de la tercera dilución para los dos puntos más bajos de la curva, y para los cuatro últimos puntos 35, 70, 100 y 120 µL procedentes de la segunda dilución de la solución madre de ciprofloxacina. Por último, a cada tubo se adicionó el volumen necesario de ácido

perclórico al 6.0 % para llegar a 500 μ L como volumen final. Todos los tubos se agitaron en un vórtex durante tres minutos y se separaron las fases por centrifugación a 10000 rpm durante 10 minutos, se tomaron de la fase líquida 20 μ L y se inyectaron al cromatógrafo.

6.4.3 Método analítico utilizado para el análisis cromatográfico.

6.4.3.1 Sistema Cromatográfico.

Columna Zorbax SB-C18 7.5 X 4.6 mm DI 5 μ

Longitud de onda 278 nm.

Velocidad de flujo 1.0 mL /min.

Volumen de inyección 20 μ L.

6.4.3.2 Preparación de la fase móvil.

Se preparó una solución de ácido fosfórico 0.025M, misma que se ajustó a un pH de 3 de la siguiente manera:

Se midieron 1.7 mL de ácido fosfórico, se llevaron a un matraz volumétrico de 1000 mL, y se aforó con agua, ajustando posteriormente el pH con trietilamina.

Se preparó una solución de Acetonitrilo – Ácido fosfórico 0.025M (pH = 3), en una proporción de 13:87 v /v.

6.4.4 Estudio farmacocinético.

Los parámetros farmacocinéticos C_{max} y t_{max} , se obtuvieron de forma directa en el perfil de concentración plasmática contra tiempo determinado en cada caso. En tanto que los parámetros como: V_d , Cl , ABC_{inf} y $t_{1/2}$ se calcularon a partir de los

datos del perfil farmacocinético, con ayuda del programa computacional WinNonlin, versión 2.1³⁰

6.4.4.1 Manejo y análisis de las muestras biológicas de los primates sometidos a estudio.

Las muestras de sangre obtenidas a diferentes tiempos de los primates en estudio, antes y después del proceso quirúrgico, fueron recibidas en tubos eppendorf con heparina (bien etiquetados), y centrifugadas posteriormente para separar el plasma y almacenarlo en congelación a -20°C para su posterior análisis que consistió en lo siguiente:

A tubos eppendorf previamente etiquetados con los tiempos de muestreo, se adicionaron 100 μL del plasma de primate tomado en cada tiempo, a cada tubo se le adicionaron además 20 μL de la solución de estándar interno (enrofloxacina), adicionando por último, el volumen necesario de ácido perclórico al 6.0 % para llegar a 500 μL como volumen final. Todos los tubos se agitaron en un vórtex durante tres minutos y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos para separar las fases, se tomaron de la fase líquida 20 μL y se inyectaron al cromatógrafo.

VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.1 Curva de calibración.

La curva de calibración evaluada en plasma de primate (Cuadro 1), constó de seis niveles de concentración de ciprofloxacina preparados a partir de una solución stock de 100 µg /mL. Se realizó un análisis de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, para determinar la ecuación de la recta que describiera el comportamiento de los resultados obtenidos.

Cipro. [µg /mL]	R. A. I	R. A. II	R. A. III	Promedio	D. Est.	C.V.
0.15	0.03402	0.0375	0.03672	0.03608	0.001826	5.06137
0.3	0.08759	0.0899	0.08878	0.08878	0.001201	1.34598
0.7	0.2406	0.2534	0.2458	0.2466	0.006437	2.61046
1.4	0.4822	0.4921	0.4889	0.4877	0.005052	1.03583
2.0	0.7182	0.7016	0.7235	0.7144	0.011426	1.59925
2.4	0.8672	0.8654	0.8701	0.8676	0.00237	0.27333

Cuadro 1. Resultados estadísticos de una curva estándar representativa. (R. A. Es la relación de alturas Ciprofloxacina /Estándar interno)

Es necesario comentar, que se evaluó una curva estándar por triplicado siempre, antes de realizar el análisis farmacocinético de ciprofloxacina en el plasma de los primates estudiados, y que los resultados aquí presentados son los de una curva representativa de las distintas que se construyeron cada vez que se realizó el análisis antes mencionado.

En la figura 9, se observa que los resultados siguen un comportamiento lineal y que las respuestas obtenidas están en función de la concentración las cuales se describen mediante la ecuación de la recta: $y = mx + b$ ($y = 0.3677 x - 0.0190$), el coeficiente de determinación de los datos está por encima de 0.98 ($r^2 = 0.9997$) comprobando de esta manera que la relación existente entre cada nivel de concentración y la respuesta correspondiente obtenida, fue lineal y continua para

el intervalo de concentraciones trabajado, que fue de 0.15 a 2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Asimismo, los valores del coeficiente de variación para cada uno de los puntos de la curva no fueron mayores al 15% tal y como se establece en la normatividad vigente.

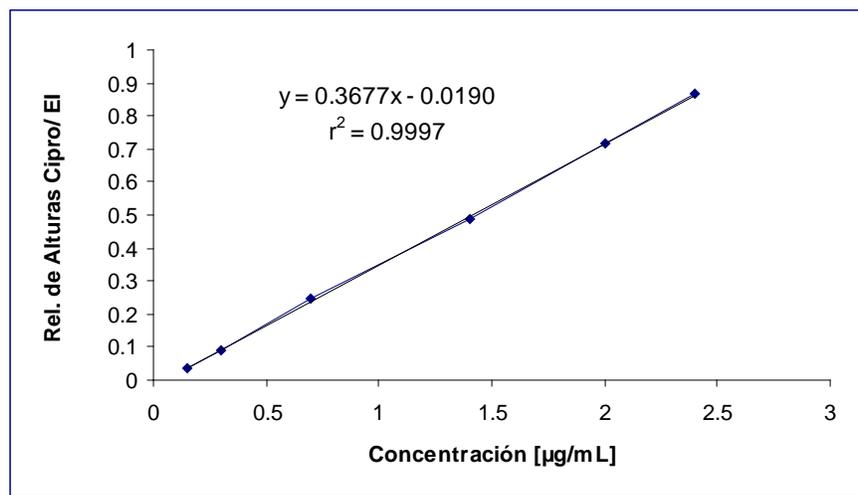


Figura 9. Curva de calibración promedio para la cuantificación de ciprofloxacina en plasma de primate.

En el intervalo de trabajo establecido, se determinaron la exactitud y precisión para cada nivel de concentración, los cuales se pueden apreciar en el siguiente cuadro.

Nivel de conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. Exp. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	% Exactitud*	Criterio (%) ²⁸	Precisión (%C.V.)	Criterio de aceptación (%) ²⁸
0.15	0.149±0.005	96.2 – 102.52	80-120	3.31297	20
0.3	0.293±0.003	96.67 – 98.83	85-115	1.10829	15
0.7	0.723±0.018	100.9 – 105.9	85-115	2.42334	15
1.4	1.378±0.014	97.37 – 99.29	85-115	0.99691	15
2.0	1.995±0.031	97.99 – 100.9	85-115	1.55773	15
2.4	2.411±0.006	100.2 – 100.8	85- 115	0.26746	15

Cuadro 2. Determinación de ciprofloxacina en plasma de primate en los seis niveles de concentración de la curva estándar representativa. (* Intervalo del % de exactitud).

Los datos presentados en el cuadro 2, señalan que la exactitud para cada nivel, misma que fue calculada como el por ciento de recobro con respecto al valor nominal, se mantuvo dentro de los intervalos señalados en la normatividad vigente. Por otra parte, los datos obtenidos para la precisión, determinada para cada nivel trabajado, no presentaron coeficientes de variación mayores al 4 %, y de igual forma, se encontraron dentro de los criterios de aceptación establecidos tanto para exactitud como para precisión, los cuales son requeridos para métodos analíticos que involucran la cuantificación de fármacos en fluidos biológicos.

Previo al análisis de las muestras, tanto de la curva estándar como del estudio farmacocinético, se inyectaba al cromatógrafo una muestra blanco para comprobar que no había interferencia alguna por productos endógenos de la matriz biológica (Figura 10).

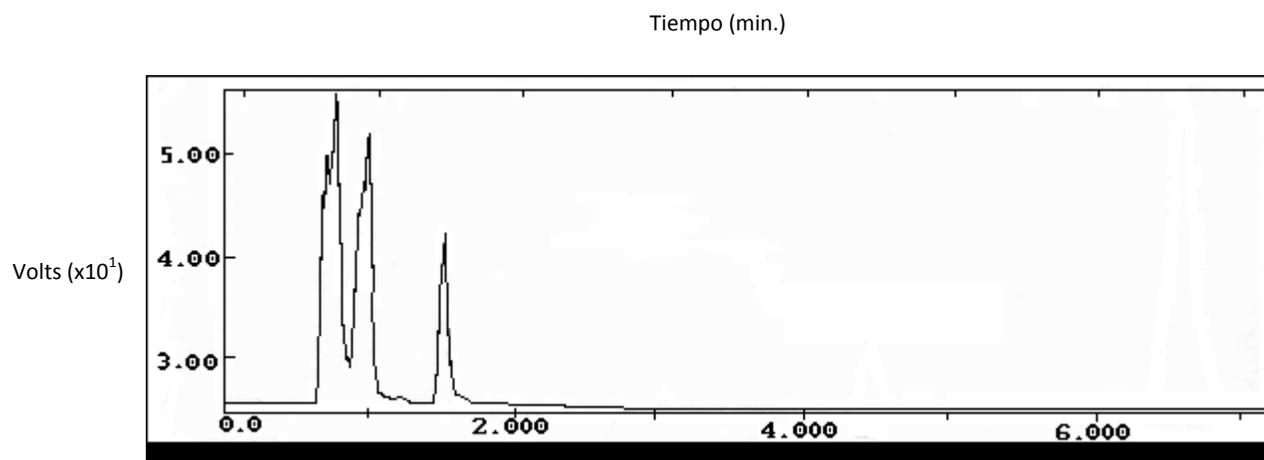


Figura 10. Cromatograma de muestra blanco con plasma de primate.

Así pues, no se detectó interferencia por posibles metabolitos, sustancias endógenas u otro medicamento que se estuviese administrando de forma concomitante (acetaminofen), como se puede observar en la Figura 11, donde se presenta un cromatograma típico obtenido durante el proceso de análisis farmacocinético de plasma de primate bajo el método utilizado.

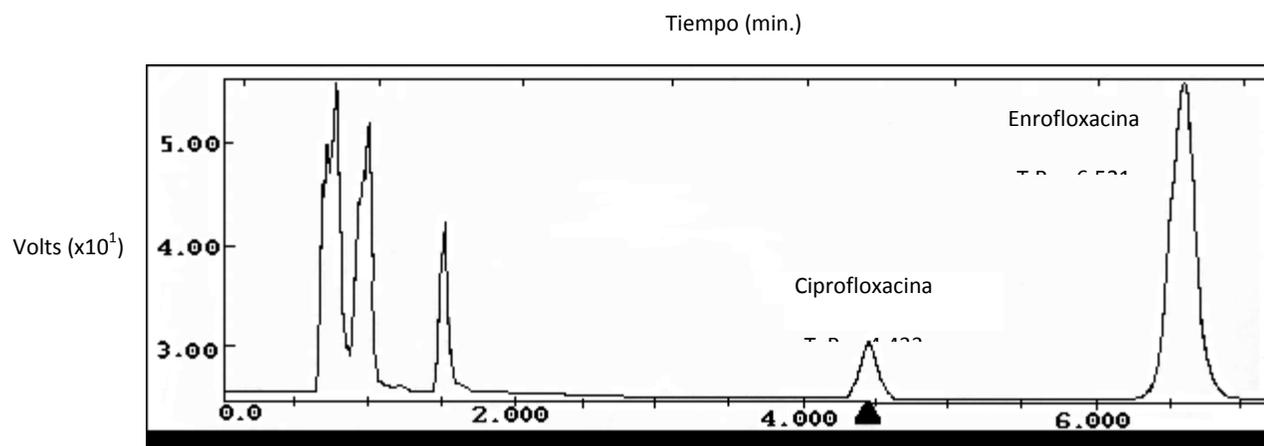


Figura 11. Cromatograma típico obtenido durante el estudio farmacocinético de ciprofloxacina en plasma de primate. T.R. = tiempo de retención en min.

7.2 Farmacocinética de ciprofloxacina pre y post – intervención quirúrgica del mono 1.

En la figura 12, se presenta la curva de concentración plasmática de ciprofloxacina contra tiempo, correspondiente al mono1 (sin laminectomía), y en el cuadro 3 se presentan los parámetros farmacocinéticos obtenidos.

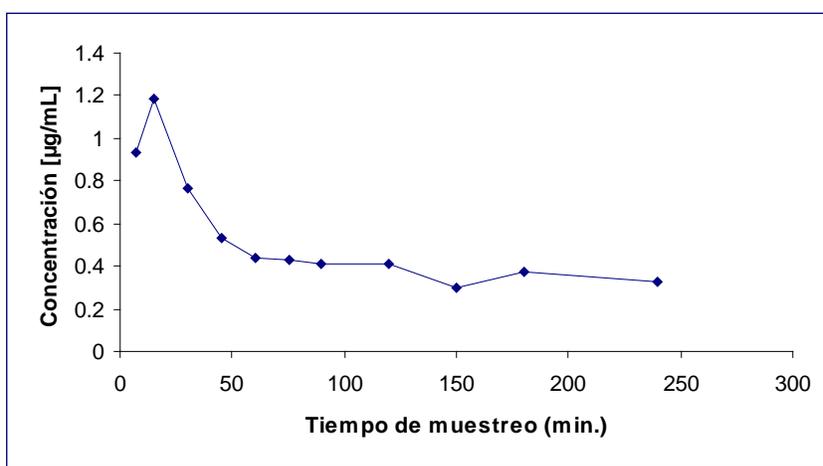


Figura 12. Perfil plasmático de ciprofloxacina [$\mu\text{g}/\text{mL}$] contra tiempo (min.), después de una administración por infusión I.V. de 10 mg /Kg durante 30 min. a un mono rhesus sin laminectomía (mono1).

C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{min.}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L/Kg)	Cl (L/min.*Kg)
1.186	30	256.8524	5.2135	17.5699	0.0389

Cuadro 3. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano (mono 1) sin laminectomía.

Al observar el perfil plasmático de ciprofloxacina para el mono 1 antes del proceso quirúrgico, puede apreciarse el comportamiento característico de una administración por infusión intravenosa, donde los parámetros farmacocinéticos determinados para ciprofloxacina (cuadro 3), no difieren de los encontrados en la literatura para otros animales de experimentación³¹⁻³².

Con la finalidad de evaluar si el procedimiento quirúrgico al que es sometido el animal de experimentación antes de ocasionarle una lesión medular, pudiera producir alteraciones suficientes para ocasionar cambios farmacocinéticos que representaran un resultado no correctamente atribuible a la lesión medular, el mono 1 fue sometido a una laminectomía, no así a la lesión medular propiamente dicha. Así en la figura 13 se presenta la curva de concentración plasmática de ciprofloxacina contra tiempo correspondiente al curso temporal del mono 1 con laminectomía y en el cuadro 4 los parámetros farmacocinéticos encontrados.

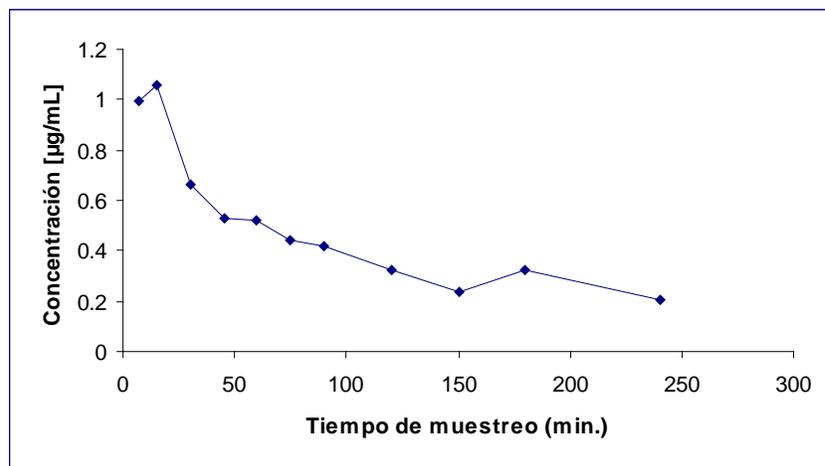


Figura 13. Perfil plasmático de ciprofloxacina [$\mu\text{g}/\text{mL}$] contra tiempo (min.), después de una administración por infusión I.V. de 10 mg /Kg durante 30 min. a un mono rhesus con laminectomía (mono 1).

C_{max} ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g} * \text{min.} / \text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L /Kg)	Cl (L /min.*Kg)
1.058	30	214.0639	3.7169	15.0301	0.0467

Cuadro 4. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano (mono 1) con laminectomía.

Aparentemente los parámetros farmacocinéticos obtenidos después del tratamiento quirúrgico, no difieren en forma relevante de los presentados en el cuadro 3, lo cual se apreciará mejor al observar la figura 14 así como el cuadro 5.

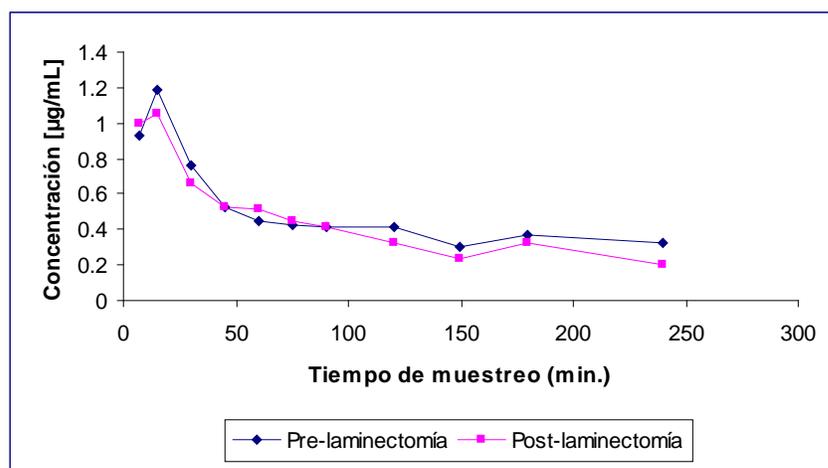


Figura 14. Perfiles plasmáticos de ciprofloxacina [$\mu\text{g} / \text{mL}$] contra tiempo (min.), después de una administración por infusión I.V. de 10 mg /Kg durante 30 min. a un mono rhesus pre y post – laminectomía (mono 1).

	C_{max} ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g} * \text{min.} / \text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L /Kg)	Cl (L /min.*Kg)
Pre – L	1.186	30	256.8524	5.2135	17.5699	0.0389
Post– L	1.058	30	214.0639	3.7169	15.0301	0.0467

Cuadro 5. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano (mono 1) pre y post – laminectomía.

Al realizar la comparación entre los perfiles plasmáticos del mono 1 antes y después de la intervención quirúrgica, se observa un comportamiento muy similar entre ambos, lo que conlleva a obtener parámetros farmacocinéticos que no difieren entre si en forma relevante, y por tanto sugieren que el proceso quirúrgico de laminectomía previo a una lesión medular, no interfiere en la farmacocinética de ciprofloxacina administrada por vía intravenosa, como se ve expresado en los parámetros farmacocinéticos obtenidos.

7.3 Farmacocinética de ciprofloxacina pre y post – lesión medular del mono 2.

El modelo de lesión medular propuesto por el Centro de Investigación Proyecto CAMINA, es por compresión, al resultar ser el más representativo de una lesión traumática de médula espinal real, y se realizó mediante el método antes mencionado del globo epidural.

Así, para evaluar la influencia de la LTME en la farmacocinética de la ciprofloxacina administrada por vía infusión intravenosa en mono rhesus, se obtuvo el perfil plasmático del fármaco en el mono 2 antes de ser lesionado y posteriormente a las 24 horas después de la intervención quirúrgica, periodo considerado como la fase aguda de la lesión. Antes del proceso quirúrgico, el mono presentó una actividad motora normal, presentando después de la lesión una paraplejía flácida completa.

A continuación se presenta la curva de concentración plasmática de ciprofloxacina contra tiempo, correspondiente al mono 2, antes de someterlo a la lesión medular y se hace una comparación con el perfil plasmático obtenido del mono 1 antes de realizarle la laminectomía. En el cuadro 6 se presentan los parámetros farmacocinéticos de cada uno de los primates.

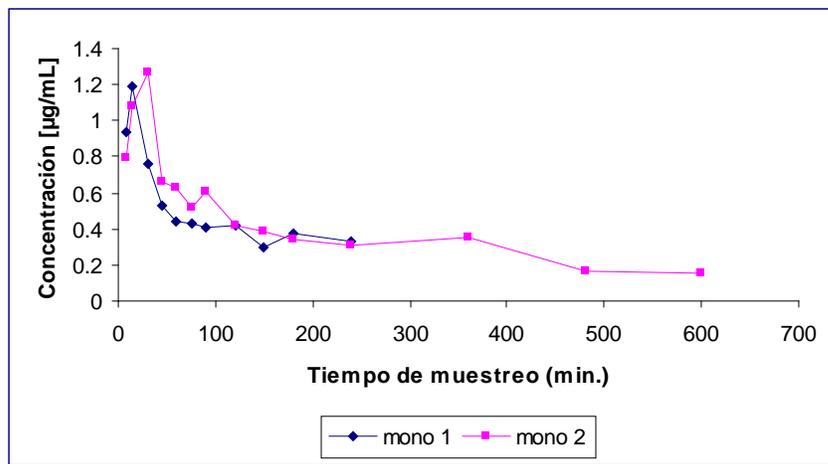


Figura 15. Comparación de los perfiles plasmáticos de ciprofloxacina [$\mu\text{g}/\text{mL}$] contra tiempo (min.), del mono 1 (pre – laminectomía) y mono 2 (pre – lesión medular), después de una administración por infusión intravenosa de 10 mg /Kg durante 30 min.

	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{min.}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L /Kg)	Cl (L /min.*Kg)
Mono 1	1.186	30	256.8524	5.2135	17.5699	0.0389
Mono 2	1.272	30	279.8126	4.6224	14.2998	0.0357

Cuadro 6. Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano: mono 1 pre – laminectomía y mono 2 pre – lesión medular.

Como puede apreciarse en la figura 15, el curso temporal de las concentraciones plasmáticas de los monos 1 y 2 sin intervención quirúrgica fue muy similar entre ambos perfiles plasmáticos, de tal forma que los parámetros farmacocinéticos obtenidos en cada uno de los monos son muy cercanos entre sí, lo que implica un comportamiento normal de ambos primates a la administración del fármaco antes de las modificaciones anatómicas realizadas.

A continuación se presenta el perfil plasmático obtenido en el estudio farmacocinético de la ciprofloxacina en el mono 2 después de la lesión medular y en el cuadro 7 los parámetros farmacocinéticos evaluados.

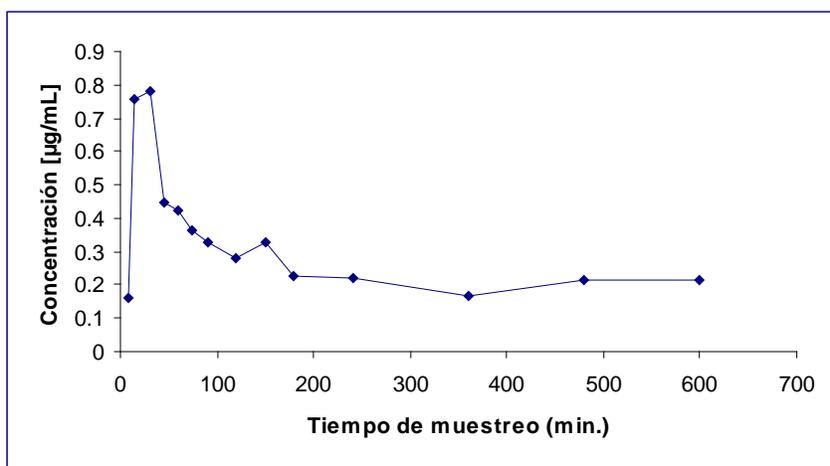


Figura 16. Perfil plasmático de ciprofloxacina [$\mu\text{g}/\text{mL}$] contra tiempo (min.), después de una administración por infusión I.V. de 10 mg /Kg durante 30 min. a un mono rhesus con lesión medular aguda (mono 2).

C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g} \cdot \text{min.} / \text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L /Kg)	Cl (L /min. *Kg)
0.7784	30	318.8645	8.8376	23.9914	0.0314

Cuadro 7. Parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano (mono 2) con lesión medular en fase aguda.

Como puede apreciarse, aparentemente los parámetros farmacocinéticos obtenidos después de la lesión medular en el mono 2, difieren en forma relevante de los presentados en el cuadro 6 antes de la intervención quirúrgica, lo cual se apreciará mejor al observar la figura 17 así como el cuadro 8.

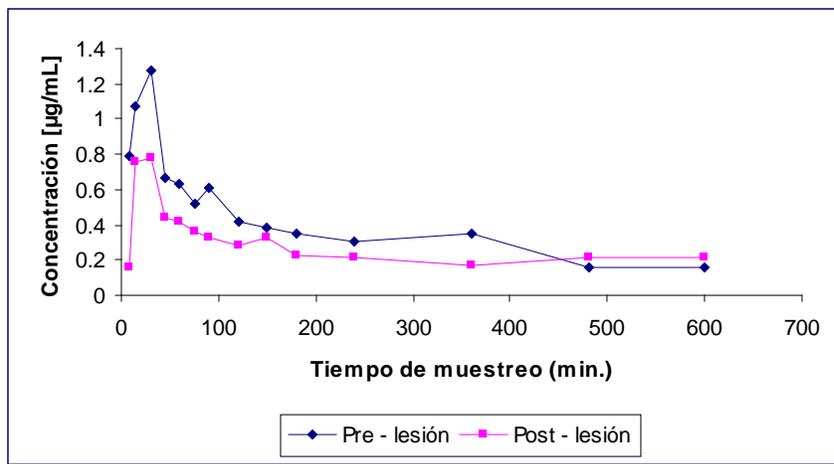


Figura 17. Perfiles plasmáticos de ciprofloxacina [$\mu\text{g} / \text{mL}$] contra tiempo (min.), después de una administración por infusión I.V. de 10 mg /Kg durante 30 min. a mono rhesus, pre y post – lesión medular (mono 2).

	C_{max} ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	t_{max} min.	ABC_{inf} ($\mu\text{g} \cdot \text{min.} / \text{mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	Vd (L /Kg)	Cl (L /min.*Kg)
Pre – L	1.272	30	279.8126	4.6224	14.2998	0.0357
Post – L	0.7784	30	318.8645	8.8376	23.9914	0.0314

Cuadro 8. Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ciprofloxacina en plasma de primate no humano: mono 2 pre y post – lesión medular.

Al realizar la comparación entre los perfiles plasmáticos del mono 2 antes y después de la lesión medular, se observa un comportamiento distinto, lo que conlleva a obtener parámetros farmacocinéticos que difieren entre si aparentemente en forma relevante, observando que la lesión medular en el mono 2 resultó en un incremento del tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de aproximadamente el 90% con respecto al valor obtenido pre – lesión, el área bajo la curva evaluada al infinito (ABC_{inf}) se incrementó cerca de un 14%, así como también el volumen de distribución (Vd) con un porcentaje aproximado del 68%, la concentración máxima (C_{max}) disminuyó en aproximadamente un 39%, y el aclaramiento renal (Cl), presentó un pequeño decremento muy cercano al 0.12%, lo cual no es necesariamente atribuible al proceso quirúrgico.

Con base en lo antes mencionado, al observar conjuntamente los perfiles plasmáticos presentados en la figura 17 así como los parámetros farmacocinéticos, se puede apreciar que hay un cambio notable en los resultados obtenidos antes y después de la lesión medular quirúrgica del mono 2, que bien pueden ser consecuencia de las distintas alteraciones derivadas del daño medular.

Así, en el caso de la concentración máxima C_{max} , se observa una disminución que puede estar relacionada con las alteraciones en la circulación sanguínea que desencadena una LTME. Se ha determinado en distintos estudios experimentales, que una de las consecuencias de dicho daño es un aumento en el líquido extra vascular con respecto al intra vascular, a causa de la baja presión osmótica coloidal intravenosa y a una alteración de la presión entre los espacios extra e intravasculares¹³, que como lo mencionan Guízar – Sahagún y colaboradores, son los cambios principales asociados con la parálisis motora y la subsecuente atrofia muscular¹².

Así, debido a la alteración en la distribución de los líquidos intra y extra vasculares, se aprecia esta ligera disminución de la concentración máxima de ciprofloxacina, lo cual no difiere de lo encontrado con otro antibiótico ampliamente usado en el tratamiento de complicaciones infecciosas en la lesión medular, como es el caso de la gentamicina, donde Segal y cols.¹³ reportan, que en pacientes con tetraplegia y paraplejia, la C_{max} es el 73% del valor obtenido en los sujetos sanos control, especulando sobre la posible influencia de la disminución del flujo sanguíneo en el sitio de administración en los pacientes con lesión medular.

El área bajo la curva que es un parámetro que indica la cantidad de fármaco en sangre, presenta un pequeño incremento en comparación con el valor obtenido pre – lesión, lo cual pareciera contraponerse a la disminución antes mencionada de C_{max} , pero al observarse un muy ligero decremento en el porcentaje del aclaramiento renal post – lesión (no necesariamente atribuido al proceso quirúrgico), se establece que esto pudo influir en el aumento observado

en el ABC ya que dicho decremento implica que la salida del fármaco del cuerpo es más lenta.

Con respecto al tiempo de vida media, se observa un aumento considerable de dicho parámetro después de la lesión medular lo cual va en concordancia con el volumen de distribución (Vd), cuyo incremento también fue notable comparado con el valor obtenido antes de la lesión, esto último concuerda con lo investigado por Segal y cols. para amikacina, un aminoglicósido semisintético ampliamente usado por su carácter antibiótico, cuyo volumen de distribución en pacientes con daño medular crónico fue 20% mayor que el observado en sujetos sanos control, lo que permitió inferir que su etiología es probablemente la misma que la postulada para el incremento en el Vd de la gentamicina, observado en similares poblaciones en estudio ¹³.

Lo anterior, sugiere que la modificación en el equilibrio de los líquidos intra y extra vasculares puede ser considerada como la causa principal de la alteración de los parámetros farmacocinéticos pre y post – lesión medular, ya que, tomando en cuenta que la ciprofloxacina se une en un 30% a las proteínas plasmáticas, la mayor parte del fármaco se encuentra en estado libre y por lo tanto difunde a través de las paredes capilares aumentando su concentración en el líquido extra vascular, que de por sí se encuentra en mayor cantidad en la lesión medular, y si a esto se añade que la ciprofloxacina ofrece un alto volumen de distribución alcanzando concentraciones muy superiores a las plasmáticas, en diversos tejidos, es lógico que exista un incremento considerable tanto en el volumen de distribución (Vd), como en el tiempo de vida media ($t_{1/2}$), ya que aumenta el tiempo necesario para que el fármaco de interés disminuya a la mitad de su concentración inicial.

Por otra parte, conociendo que el antibiótico en cuestión se elimina principalmente por vía renal, el aclaramiento (Cl) es el mejor indicio para saber si hay alteración de esta vía a causa de la lesión, sin embargo, pese a que se observa un ligero decremento no se puede sugerir alteración en la depuración renal del fármaco, atribuible a cambios en la microcirculación renal característicos

de una LTME. Lo anterior se respalda con lo estipulado por Guízar – Sahagún y cols. que indican que la función renal es adecuadamente preservada en la mayoría de las personas con lesión medular y solo cerca del 10% de los pacientes presentan función renal alterada que puede ir de moderada a severa asociada frecuentemente con patologías concomitantes ¹².

7.4 Aplicación del proyecto

El proyecto de investigación realizado presenta resultados que pueden ser aplicados en estudios posteriores de farmacocinética de ciprofloxacina en pacientes con lesión medular a nivel de paraplejia como previo fundamento para especular sobre los posibles resultados e incluso para posteriores estudios en modelos animales de primates no humanos con diferentes niveles de lesión para hacer una comparación con los parámetros farmacocinéticos obtenidos. Sin embargo, la aplicación más importante va enfocada al hecho de que presenta un fundamento experimental para justificar la posible influencia de la lesión traumática de médula espinal sobre los parámetros farmacocinéticos de la ciprofloxacina, lo cual debe tenerse en cuenta para considerar la posibilidad de establecer un régimen de dosificación adecuado para pacientes con lesión medular con el fin de asegurar la eficacia terapéutica de dicho fármaco cuyo uso es común en pacientes con este padecimiento.

VIII. CONCLUSIONES

- ✓ El comportamiento farmacocinético de la ciprofloxacina administrada vía infusión intravenosa en monos rhesus sin laminectomía y sin lesión medular es similar a la reportada en otras especies.
- ✓ El proceso de laminectomía a nivel T11 en mono rhesus puede no alterar la farmacocinética de la ciprofloxacina.
- ✓ El modelo experimental de lesión traumática de medula espinal (compresión a través de globo epidural) aplicado a mono rhesus, a nivel T9, sugiere alteración de la farmacocinética de la ciprofloxacina administrada por vía intravenosa.

IX. VENTAJAS, DESVENTAJAS Y SUGERENCIAS

- ✓ El método utilizado para realizar el manejo de las muestras biológicas es muy sencillo de llevar a cabo puesto que se obtienen porcentajes aceptables de recuperación de ciprofloxacina sin la necesidad de recurrir a otras técnicas más complicadas de extracción.
- ✓ La separación de los picos de ciprofloxacina y enrofloxacin fue aceptable, lo que implica que la fase móvil empleada fue adecuada. Sin embargo, se debe tener cuidado en el lavado de la columna respetando el tiempo necesario para hacer pasar la mezcla de solventes utilizada para tal fin después de realizar una corrida analítica, ya que de lo contrario se pueden desplazar los tiempos de retención de las sustancias analizadas y en casos extremos se puede perder la columna.
- ✓ Con el fin de alargar la vida útil de la columna, se sugiere utilizar pre – columnas Zorbax SB – C18 durante el análisis de las muestras biológicas, ya que su uso evita el paso de las proteínas precipitadas del plasma de primate y otras partículas, mismas que son potenciales contaminantes de la columna.
- ✓ Por otra parte, con el fin de asegurar que la LTME influye en la farmacocinética de la ciprofloxacina se sugiere realizar un estudio con un mayor número de primates no humanos (apegándose a los códigos de ética), que tengan el mismo nivel de lesión, realizando una cinética pre y post – lesión medular y un posterior análisis estadístico que avale matemáticamente dicha conclusión.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Velásquez A. V., Fernández P. L., Serrano M. J., Trelles F. A. (1993). Farmacología. 16ª Ed. Nueva York. Mc Graw – Hill. Interamericana. Pp: 13 –21, 26 – 29.
 2. Rang H. P., Dale M. (1992). Farmacología. Edimburgo. Churchill Livingstone. Pp: 77 – 79, 82 – 87.
 3. Gibaldi M., Perrier D. (1982).Farmacocinética. Reverté S.A. Barcelona. Pp: 1 – 11, 28 – 31, 235 – 237, 259 – 261.
 4. Smith C. M., Reynard A. M. (1993). Farmacología. Buenos Aires. Médica panamericana. Pp: 40 – 52, 58 – 63, 75 – 86.
 5. Bruce C., Dennis A. S., (1989). Introducción a la farmacocinética. España. Acribia. Pp: 1 – 17, 25 – 31.
 6. Conn M. P., Gebhart G. F. (1991). Principios de farmacología. México. El Manual Moderno. Pp: 12 – 21, 28 – 32, 41 – 52.
 7. Gibaldi M., Perrier D. (1984). Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics, 3a ed., Philadelphia. Lea & Febiger. Pp: 1 – 5, 9 – 13, 67 – 68.
 8. Asociación para el Estudio de la Lesión Medular Espinal (AELESME). La Salud Nuestra Principal Apuesta.
 9. Taoka Y., Okajima K. (1998). Spinal cord injury in the rat. Elsevier Science 98: 341 – 353.
-

10. Guízar 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); 1614 – 1621.
 11. Díaz R. A., Guisar S. G., Ríos C. C. (2002). Estrategias neuroprotectoras después de una lesión traumática de la médula espinal. *Revista médica IMSS* 40 (5); 437 – 455.
 12. Guízar S. G., Hernández G., García P., Franco R., Grijalva I., Madrazo I. (1998). Pathophysiological mechanisms involved in systemic and metabolic alterations secondary to spinal cord injury. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 41: 237 – 240.
 13. Segal J. L., Brunnemann S. R. (1989). Clinical pharmacokinetics in patients with spinal cord injuries. *Clinical pharmacokinetic.* 17 (2); 109 – 129.
 14. Gilman T. M., Brunnemann S. R. Segal J. L. (1993). Comparison of population pharmacokinetic models for gentamicin in spinal cord – injured and able – bodied patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1 (73); 93 – 99.
 15. García P., Pérez J., Ibarra A., Guízar S., Flores M., Grijalva I., Castañeda G. (1995). An experimental model for the study of pharmacokinetic alterations induced by spinal cord injury in the rat. *Pharmaceutical sciences.* 1: 133 – 135.
 16. Fuentes L. G., Guízar S. G., García L. P. (1999). Effect of experimental spinal cord injury on salicylate bioavailability after oral aspirin administration. *Journal pharmacology and toxicology* 42; 93 – 97.
-

17. Ibarra A., Guízar G., Correa D., Kretschmer R., Grijalva I., Flores F., et al. (1996). Alteration of Cyclosporin – A Pharmacokinetics after Experimental Spinal Cord Injury. *Journal of neurotrauma*. 13 (5); 267 –268, 270 – 271.
 18. Segal J. L., Brunnemann S. R., Gordon S. K., Eltorai I. M. (1986). The absolute bioavailability of oral theophylline in patients with spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 6 (1); 26 – 29.
 19. García L. P., Guízar S. G., Castañeda H. G. (1999). Effects of high and low thoracic spinal cord injury on the oral pharmacokinetics of paracetamol in rats. *Pharmaceutical Pharmacol. Commun.* 5: 579 – 581.
 20. Hooper D. C., Wolfson J. S. (1991). Fluoroquinolone antimicrobial agents. *N Engl J Med*; 324:384-394.
 21. Mcevoy G. (1992). AHFS Drug information. Published by Authority of the Board of Directors of the American Society of Hospital Pharmacists. Pp: 61 – 67.
 22. Belliveau P., Nightingale CH., Quintiliani R., et al. (1993). Oral ciprofloxacin, ofloxacin, and lomefloxacin as alternatives to intravenous antimicrobial therapy. *Conn Med*. 57: 539 – 545.
 23. Vega J. (2000). *Química orgánica para estudiantes de ingeniería*. 2ª ed. México. Alfa-omega. Pp: 246 – 252.
 24. Secretaria de Salud. (2000). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 7ª Ed.* México. Editorial talleres gráficos de publicaciones e impresiones de calidad. Tomo I 226, 234-237, 687-688.
-

25. Hanai T. (1999). HPLC A practical guide. Health Research Foundation. Royal Society of Chemistry. 7–9, 19, 27–29, 57–59, 77–89.
 26. 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.
 27. Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Rockville, MD20857. May 2001.
 28. Shah, P.V., Midha, K.K., Dighe, S., McGilveray, I.J., Shelly, J.P., Yacobi, A., Laylof, T., Viswahathan, C.T., Cook, E., McDowall, R.D., Pittman, K.A., y Spector S. (1992). Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*: 81 (3): 309 – 312.
 29. 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.
 30. Metzler C. M., Gabrielsson J. L. (1995). Win Nonlin. User Guide. Profesional Data Analysis Scientific Consulting. Inc. USA.
 31. Ovando H., Gorla N., Poloni G., Trotti N., Prieto G., Errecalde C. (2000). Intravenous pharmacokinetics of ciprofloxacin in goats. *Journal of antimicrobial agents*. 15(1): 77 – 79.
 32. Mohan A., Garg S. (2003). Disposition kinetics of ciprofloxacin following a single intravenous dose in calves. *Indian Journal of Pharmacology*. 35: 227 – 231.
-