

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina

**NEFROTOXICIDAD DE DOS REGIMENES DE
ADMINISTRACION DE GENTAMICINA:
MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS**

MEMORIA PARA ACCEDER AL GRADO DE DOCTOR DE:

D. PEDRO GONZALEZ BLANCO

**DIRECTOR: *Prof. Dr. D. Rafael Enriquez de Salamanca y Lorente*
*Dr. D. José María Aguado García***

Madrid, Mayo de 1996

*PROF. DR. D. RAFAEL ENRÍQUEZ DE SALAMANCA Y LORENTE,
CATEDRÁTICO DE MEDICINA Y JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID y*

*DR. D. JOSÉ MARÍA AGUADO GARCÍA, PROFESOR ASOCIADO DEL
DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID:*

HACEN CONSTAR QUE:

*D. PEDRO GONZÁLEZ BLANCO ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo
titulado: "NEFROTOXICIDAD DE DOS REGÍMENES DE ADMINISTRACIÓN
DE GENTAMICINA: MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS".*

*Y que dicho estudio reúne las condiciones necesarias para ser presentado y
defendido para optar al GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA.*



*Prof. Dr. Enriquez de Salamanca y Lorente
Catedrático de Medicina y Jefe del
Departamento de Medicina*



*Dr. Aguado García
Profesor Asociado del
Departamento de Medicina*

Madrid, Mayo de 1996

Quiero agradecer la colaboración de todas las enfermeras y médicos de los Departamentos de Cirugía General y Medicina Interna del Hospital Doce de Octubre, en especial de los Servicios de los doctores de la Cruz, Moreno y Damiano.

Mi especial agradecimiento a la dra. Ortuño, Mari Tere, Ofelia y Ascensión del Servicio de Medicina Nuclear, Miguel Angel Martinez, Teresa Fernández, Joaquín Arenas y Belen Börnstein del Servicio de Bioquímica e Inmaculada de Microbiología por su estímulo y ayuda desinteresada durante todo el período de diseño y realización del estudio, y sin los cuales no se hubiera podido llevar a cabo.

Expreso mi gratitud a mis compañeros y amigos doctores Gutiérrez, Antón, Moreiras, Palma, Herróez y Ramos, así como a Mariana que participaron generosamente en la confección del manuscrito, apoyándome en todo momento en su finalización.

Y finalmente un recuerdo especial al dr. Aguado -de la Unidad de Enfermedades Infecciosas- generador de la idea de la que nació este trabajo, y al Profesor Enríquez de Salamanca que siempre se encontró dispuesto a ayudarme.

A mi mujer Remedios

y a mi hijo Pedro

En memoria de mi tío Vita

INDICE

<i>(1).INTRODUCCION</i>	1
<i>(1a).NEFROTOXICIDAD DE LOS AMINOGLUCOSIDOS</i>	6
<i>Mecanismo de afectación tubular por AG</i>	7
<i>Deterioro del filtrado glomerular</i>	11
<i>Factores que condicionan nefrotoxicidad por AG</i>	12
<i>Nefrotoxicidad experimental por AG</i>	16
<i>Nefrotoxicidad clínica por AG</i>	18
<i>Individualidad de cada AG</i>	27
<i>(1b).CARACTERISTICAS FARMACODINAMICAS DE LOS</i>	
<i>AMINOGLUCOSIDOS</i>	34
<i>ACTIVIDAD BACTERICIDA DE LOS AMINOGLUCOSIDOS</i>	36
<i>Actividad bactericida de los AG</i>	37
<i>Mecanismo de la actividad bactericida de los AG</i>	39
<i>Características de la acción bactericida de los AG</i>	42
<i>Actividad bactericida concentración-dependiente</i>	44
<i>EFFECTO POSTANTIBIOTICO EN AMINOGLUCOSIDOS</i>	51
<i>Mecanismo del efecto postantibiótico</i>	52
<i>Características del efecto postantibiótico</i>	54
<i>EFFECTO SUB-MIC DE LOS AMINOGLUCOSIDOS</i>	62
<i>RESISTENCIA ADAPTIVA DE LOS AMINOGLUCOSIDOS</i>	64
<i>Resistencia frente AG</i>	65
<i>Mecanismo de resistencia adaptiva</i>	66
<i>Características de la resistencia adaptiva</i>	67

(1c).BASES FARMACOLOGICAS DE LA MONODOSIS DE	
 AMINOGLUCOSIDOS	71
(1d).ESTUDIOS EXPERIMENTALES CON MONODOSIS DE	
 AMINOGLUCOSIDOS	81
(1e).ENSAYOS CLINICOS CON MONODOSIS DE	
 AMINOGLUCOSIDOS	85
(1f).N-ACETIL β-GLUCOSAMINIDASA Y AMINOGLUCOSIDOS	95
<i>Propiedades bioquímicas de las Hexosaminidasas</i>	96
<i>Distribución tisular y excreción de NAG</i>	99
<i>Aplicación clínica de NAG</i>	101
<i>NAG y aminoglucósidos</i>	103
(1g).BETA-2-MICROGLOBULINA Y AMINOGLUCOSIDOS	107
<i>Farmacocinética de la BMG</i>	108
<i>Aplicación clínica de la BMG</i>	109
<i>BMG y aminoglucósidos</i>	110
(2)OBJETIVO	113
(3).MATERIAL Y METODOS	115
<i>Población</i>	116
<i>Diseño de estudio y tratamiento</i>	118
<i>Métodos de laboratorio</i>	120
<i>Beta-2 microglobulina</i>	120
<i>N-acetil β-glucosaminidasa</i>	123
<i>Creatinina.</i>	124
<i>Sodio</i>	125
<i>Método estadístico</i>	126

(4).RESULTADOS	127
<i>Estadística básica y análisis de las características epidemiológicas de los pacientes</i>	128
<i>Estadística básica y análisis de las características del tratamiento</i>	128
<i>Estadística básica y análisis de los niveles séricos de gentamicina</i>	130
<i>Foco primario de infección</i>	133
<i>Microorganismos identificados</i>	134
<i>Antibioticoterapia asociada a gentamicina</i>	135
<i>Evolución clínica</i>	136
<i>Comportamiento de la Creatinina con Gentamicina</i>	137
<i>Comportamiento de la Fracción Excrecional de sodio (FENa) con Gentamicina</i>	144
<i>Comportamiento de la Beta-2 Microglobulina (BMG) con Gentamicina</i>	155
<i>Comportamiento de la N-acetil β-glucosaminidasa (NAG) con Gentamicina</i>	168
<i>Correlación entre características de pacientes y marcadores</i>	179
<i>Correlación entre características del tratamiento y marcadores</i>	181
<i>Correlación entre niveles séricos de gentamicina y marcadores</i>	183
<i>Correlación entre niveles séricos de gentamicina</i>	185

<i>Correlación entre parámetros</i>	187
<i>Curvas de regresión lineal</i>	190
(5).DISCUSION	194
(6).CONCLUSIONES	216
(7).BIBLIOGRAFIA	219

ABREVIATURAS

AG: Aminoglucósidos

ATP: Adenosin trifosfato

AUC: Area bajo la curva

BG (-): Bacilos gram negativos

CBS: Capacidad bactericida sérica

CFU: Unidad formadora de colonias

CTP: Célula tubular proximal

Δ: Incremento

*EDP: Fase dependiente de energía o
"energy-dependent phase"*

FFNa: Fracción de excreción de sodio

FG: Filtrado Glomerular

FPR: Flujo plasmático renal

GMPC: Guanidín monofosfato cíclico

GN: Gentamicina

*ICs: Concentración inhibitoria de
sustrato*

IC: Intervalo de confianza

IRA: Insuficiencia renal aguda

LPS: Liposacáridos

MD: Monodosis

*MBC: Concentración bactericida
mínima*

*MIC: Concentración inhibitoria
mínima*

*MRT: Tiempo que tarda en recuperar
MIC previa*

NO: Oxido nitroso

PAE: Efecto postantibiótico

*PALE: PAE incrementado por
leucocitos o "Post-antibiotic
leukocyte enhancement"*

PL: Fosfolípidos

RBP: Proteína Ligadora de Retinol

RNA_m: Acido ribonucleico mensajero

TD: Triple dosis

T_{1/2}: Vida media

V_d: Volumen de distribución

INTRODUCCION

Los aminoglucósidos (AG) se encuentran presentes en el arsenal terapéutico desde la década de los cuarenta. Durante años se consideraron pieza fundamental en el tratamiento de infecciones severas por bacilos gram negativos [BG(-)], bien usados solos o en combinación con betalactámicos. Sin embargo, últimamente han sido desplazados por cefalosporinas y fluoroquinolonas debido a su similar eficacia y menor toxicidad.

Los AG presentan cualidades muy interesantes para un antimicrobiano: (a) su capacidad bactericida es potente, rápida y esencialmente completa, (b) no se afectan por el inóculo bacteriano, (c) su comportamiento farmacocinético es predecible y dosis-dependiente y (d) presenta sinergismo con otros antibioticos.

Asimismo poseen una serie de características farmacodinámicas y cinéticas que permiten alterar los regímenes fraccionados convencionales de dosificación sin modificaciones en la eficacia ni incrementos en la toxicidad; y ellas son:

- 1. Actividad bactericida concentración dependiente.*
- 2. Efectos postantibiótico (PAE) y subMIC.*
- 3. Aparición de fenómenos de resistencia adaptiva.*
- 4. Captación saturable de AG por receptores de células diana.*

Por ello en los años ochenta comenzaron a desarrollarse modelos de administración de AG que ofrecieran idénticos resultados, primero en estudios experimentales y en animales, y posteriormente en ensayos clínicos. A partir de ellos se ha comprobado la utilidad de la prolongación del intervalo de dosificación hasta su administración única al día.

Los estudios clínicos realizados hasta ahora no han mostrado menor eficacia ni mayor oto o nefrotoxicidad de los regímenes que administran monodosis (MD) frente dosis fraccionadas de AG.

Sin embargo los ensayos clínicos realizados hasta ahora apenas han incluido a la gentamicina (GN). Y como se mostrará posteriormente, la cinética renal es específica para cada AG, lo que puede comportar distintos índices de nefrotoxicidad.

Aparte de ello, se han utilizado muy distintos marcadores de nefrotoxicidad, pero escasamente de disfunción tubular, que pueden anteceder al deterioro clínico de la función renal, y ofrecen una mayor sensibilidad para el estudio de las alteraciones inducidas por los AG.

Este estudio clínico, randomizado y prospectivo, pretenderá mostrar cuál es la afectación tubular por dos regímenes diferentes de administración de GN, monodosis frente triple dosis, en dos cohortes de pacientes. Para ello se van a utilizar diversos marcadores que se han mostrado útiles previamente en la valoración de la tubulotoxicidad inducida por fármacos, y concretamente por AG: la enzimuria de Hexosaminidasas (N-acetil D-glucosaminidasa o NAG), la excreción urinaria de una de las denominadas "Proteínas de bajo peso molecular" (en particular la Beta-2 microglobulina o BMG) y la natriuresis.

Los AG son sustancias derivadas de los actinomicetos que constan de un ciclohexano con sustituyentes aminos, denominado aminociclitol, que se liga mediante un enlace glicosídico con azúcares, aminados o no. Se distinguen dos grupos fundamentales ⁽¹⁾:

1. Aquellos cuyo anillo central aminociclitol es la Estreptidina: Estreptomina y Espectinomicina.

2. Aquellos cuyo anillo aminociclitol es la 2-deoxiestreptamina, y que se subdividen en tres familias:

-Familia de Kanamicina: Kanamicina A y B, Amikacina, Tobramicina y Dibekacina.

-Familia de Gentamicina: Gentamicina C1, C1a y C2, Sisomicina, Netilmicina e Isepamicina.

-Familia de Neomicina: Neomicina y Paromomicina.

Todos los AG comparten la capacidad de dañar el túbulo renal, coclea y aparato vestibular, así como inducir bloqueo neuromuscular. La capacidad tóxica se correlaciona con su carga catiónica en el pH celular ^{(1) (2)}.

Los AG no son metabolizados en vivo; sólo van ligados en un porcentaje inferior al 5-10% a proteínas plasmáticas. La vía de excreción es renal, y sólo un 1% se elimina por heces y saliva⁽³⁾. El 5% del AG filtrado se liga al "borde en cepillo" de las células tubulares proximales (CTP), donde es reabsorbido y resulta responsable de la toxicidad renal ^{(4) (5) (6)}. En individuos con función renal normal se recupera el 90% de la dosis por orina y hasta 20-30 días después de finalizar el tratamiento ⁽⁷⁾;

el restante 10% se distribuye a nivel tisular con una vida media variable, entre 30 y 700 horas ⁽⁷⁾ ⁽⁸⁾.

NEFROTOXICIDAD
DE LOS
AMINOGLUCOSIDOS

NEFROTOXICIDAD POR AMINOGLUCOSIDOS

Se van a explicar los siguientes apartados :

- 1.Mecanismo de afectación tubular por AG. Mecanismo de nefrotoxicidad.*
- 2.Factores que condicionan la nefrotoxicidad.*
- 3.Factores que modifican la nefrotoxicidad, tanto en clinica como a nivel experimental.*
- 4.Individualidad de la farmacocinética renal de cada AG.*

1.MECANISMO DE AFECTACION TUBULAR POR AG

El estudio de la afectación tubular por AG se ha realizado a nivel empirico sobre los siguientes modelos: (a) sistemas enzimáticos aislados, (b) vesículas de membrana celular, lisosomas y mitocondrias, (c) cultivo celular de células tubulares y (d) riñones aislados y perfundidos.

*De los datos recogidos de estudios previos se concluye cierta cronopatología, apareciendo las alteraciones enzimáticas y funcionales en los primeros cinco días y ocurriendo los cambios morfológicos a partir del sexto. Los **eventos funcionales** son:*

(1).Filtración glomerular del 99% del AG administrado, que produce:

(1a).Permeabilidad incrementada del glomérulo, y albuminuria ⁽⁹⁾.

(1b).Unión al "borde en cepillo" de la membrana de las CTP de los segmentos S1 y S2 de la nefrona, sobre todo del cortex renal, a través de receptores específicos, con un mecanismo similar al usado por aminoácidos, péptidos y poliaminas ^{(4) (5) (6) (10)}; su expresión a nivel tubular y coclear es modulada por

estimulación hormonal -la PTH se ha implicado. Los receptores son saturables y de baja afinidad, aunque presenta una alta capacidad de unión^{(11) (12) (13) (14) (15)}.

(2). El AG no filtrado circula a través de las arteriolas eferentes, uniéndose a la porción basolateral de la membrana celular de las CTP^{(15) (16)}, con lo que se inhibe la Adenilatociclasa⁽¹⁷⁾ y ATPasa Na/K⁽¹⁸⁾ -consta de dos subunidades cuya estructura estereoquímica depende de su relación con los fosfolípidos (PL) del entorno⁽¹⁷⁾.

(3). El AG unido al borde en cepillo provoca:

(3a). Excreción urinaria de enzimas de membrana: GGT, Lisozima, FAL, AAP y NAG⁽¹⁸⁾.

(3b). Excreción aumentada de cationes divalentes⁽¹⁸⁾ -Calcio y Magnesio- y Na⁽¹⁹⁾. Sobre asa ascendente de Henle inhibe reabsorción del ion cloruro, y por tanto de K y Na.

(3c). Internalización por pinocitosis del AG^{(4) (6)}.

(4). Tras internalizarse por pinocitosis⁽²⁰⁾:

(4a). Alteración enzimática de la Fosfolipasa del ciclo del Fosfatidil-inositol y Esfingomielina^{(12) (21) (22)}, al interaccionar el AG, policationico a pH ácido intracelular, y el Fosfatidil 4-5 bifosfato, polianiónico. Debido a ello se desplaza el calcio ligado a PL, y fosfolipiduria⁽¹⁸⁾.

(4b). Movimiento intracelular con localización perinuclear del AG en aparato de Golgi y retículo endoplásmico, en tan sólo 15 minutos⁽²³⁾.

(5). Tras la integración intracelular:

(5a). Integración en lisosomas, con formación de Cuerpos Mieloides o Citosegregasomas, y su excreción urinaria ⁽²⁴⁾ ⁽⁵⁾.

(5b). Integración en mitocondria, con alteración de la cadena respiratoria oxidativa. Además, los AG compiten con el Magnesio -inhibidor de la permeabilidad a cationes monovalentes- y provoca "swelling mitocondrial" ⁽²⁵⁾.

(5c). Integración en ribosomas, con inhibición de proteosíntesis, y lectura errónea de RNAm. La concentración intralisosomal puede alcanzar concentraciones de 10 g/l. Se ha comprobado que la GN C₂ induce el máximo grado de lectura errónea de RNAm, mientras la GN C₁ provoca más inhibición de proteosíntesis ⁽²⁵⁾ ⁽²⁶⁾.

En CTP de rata se ha descrito la cronología de la integración celular de la GN mediante autorradiografía con H³-GN ⁽²⁰⁾: en 10 minutos aparece distribución subapical, a los 60 min. ocurre la extensión citoplásmica, y a las 6 horas se redistribuye en vacuolas. El mecanismo de transferencia del citosol a lisosomas según los autores correspondería a un "proceso autofagocítico", quedando firmemente ligada la GN a las vacuolas intracelulares en 48 horas.

Las alteraciones morfológicas que representan la lesión de las CTP corresponden a ⁽¹²⁾:

-Alteración en el tamaño, número y estructura de lisosomas a M.O.

-Aparición de cuerpos mieloides a M.E. Representan lípidos no digeridos; cada mol de PL corresponde a 1.8 µl de citosegregasoma ⁽²⁷⁾.

-Alteración de las microvellosidades del "borde en cepillo" a M.E.

-Alteración de cisternas del retículo endoplásmico a M.E.

-"Swelling" o edema mitocondrial a la M.E.

Las alteraciones morfológicas ⁽¹²⁾ que representan cambios regenerativos son:

-Proliferación de CTP, con dilatación tubular.

-Proliferación de fibroblastos e infiltración intersticial por células inflamatorias.

Los datos farmacocinéticos más notables de la interacción AG-túbulo son:

-La **afinidad** del AG con la membrana celular es paralela a su contenido en grupos amino libres, y por tanto específica para cada antibiótico ⁽¹⁵⁾.

-La **cinética de captación tubular** es bifásica, con una fase precoz de rápida absorción de unos 15 minutos de duración, y otra posterior, más lenta y gradual que se mantiene al menos durante 120 minutos ⁽¹⁵⁾.

-La captación requiere un **Transporte Activo**, que disminuye en presencia de hipotermia, anoxia, ouabaina -inhibidor de la ATPasa- y del dinitrofenol-bloqueante de la fosforilización oxidativa. Utilizando el cociente T/M (concentración de AG en túbulo renal en relación con el medio) en cultivos celulares diversos autores han demostrado la existencia de tal transporte activo al reducirse el ratio en presencia de inhibidores:

Autores	<u>Ratio T/M</u>			
	<u>Control</u>	<u>Ouabaina</u>	<u>Dinitrofenol</u>	<u>Hipoxia</u>
Barza ⁽¹⁵⁾	0.5	0.25	0.15	n.r.
Hsu ⁽²⁶⁾	1.44	n.r.	1.03	1.01
Kluwe-Hook ⁽²⁹⁾	3.5	n.r.	n.r.	2

(n.r.: no realizado)

Estas características se verifican tanto para el transporte a través de la membrana del "borde en cepillo" como de la porción basolateral antiluminal del túbulo proximal.

-La captación de AG es saturable ⁽¹⁵⁾ ⁽²⁹⁾, y en concreto para la GN se ha comprobado para concentraciones que oscilan entre 10-50 µg/ml de medio. Usando el ratio T/M para GN, Barza y col. demostraron tal característica ⁽¹⁵⁾:

<u>Concentracion de GN en el medio</u>	<u>Ratio T/M</u>
1 µg/ml	0.33
5 µg/ml	0.35
10 µg/ml	0.31
50 µg/ml	0.30
500 µg/ml	0.26
5000 µg/ml	0.17

2.DETERIORO DEL FILTRADO GLOMERULAR

El mecanismo de disminución del Filtrado Glomerular (FG) por necrosis de CTP inducido por AG no está dilucidado, pero existen varias hipótesis:

(1).Obstrucción Tubular ⁽³⁰⁾ ⁽³¹⁾, estudiado mediante micropunción, en relación con células necróticas; se ha comprobado dilatación tubular y aumento de presión intraluminal de hasta 60 mmHg tras descamación de CTP, con lo que disminuiría la presión de FG.

(2). "Backleak" de fluido ⁽³⁰⁾ a través de células necróticas del túbulo proximal, con lo que el ultrafiltrado se reintroduce en circulación y el FG efectivo disminuye.

(3). Liberación de Angiotensina II que vasoconstruye las arteriolas aferentes; sin embargo el uso de IECAs no ha disminuido la incidencia de nefrotoxicidad ⁽¹⁸⁾.

(4). Cambio del coeficiente de ultrafiltración glomerular por cambio en la fenestración del ovilleo glomerular ^{(11) (18)}.

Actualmente se considera probable la intervención de varios mecanismos.

3. FACTORES QUE CONDICIONAN NEFROTOXICIDAD

Se pueden considerar genéricamente cuatro tipos de factores:

(1). FACTORES TUBULARES: los más ampliamente estudiados y definidos tanto a nivel experimental, animal como humanos. Corresponden a la interacción del AG con las CTP.

(2). FACTORES VASCULARES: Sólo muy recientemente se ha implicado como coadyuvante en la génesis de nefrotoxicidad por AG. Su importancia relativa está por determinar, y resulta variable según el animal estudiado y dosis usada.

En la IRA experimental inducida por AG sucede la liberación de una serie de sustancias con actividad vascular, unas vasoconstrictoras con actividad sobre arteriola aferente: (a) activación del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona ⁽³²⁾, (b) aumento de la peroxidación lipídica, que libera aniones superóxido ⁽³³⁾, (c) incremento del contenido de Endotelina renal ^{(32) (33)}, y otras vasodilatadoras: (d) aumento de la síntesis de óxido nítrico ⁽³⁴⁾, e (e) incremento de síntesis de PGE₂ y PGI₂. En la actualidad se desconoce si corresponden a mecanismos compensadores

o etiopatogénicos en la génesis de la toxicidad renal; de tal modo que ni la utilización de IECAs ni el tratamiento con Superóxido-dismutasa disminuyen la severidad de la necrosis tubular, aún cuando mejore el Flujo Plasmático Renal (FPR). Todo ello desemboca en una disminución de éste en relación con vasoconstricción renal, así como descenso del FG efectivo.

(3). FACTORES GLOMERULARES. Autores españoles ⁽³⁴⁾ recientemente han descrito tras el uso de AG: (a) incremento de la actividad de la NO-Sintetasa, de su producto óxido nítrico y de su mediador cGMP a nivel glomerular, y (b) liberación disminuida de la renina activada desde el mesangio, a pesar de su incremento total a nivel renal, por presentar una captación disminuida de calcio extracelular.

(4). FACTORES INTERSTICIALES. El infiltrado de células inflamatorias que aparece en el desarrollo de la necrosis tubular corresponde a un mecanismo regenerativo.

Por lo tanto el único factor demostrado con carácter etiopatogénico es el **FACTOR TUBULAR**, fruto de la interacción del AG con la CTP, y en concreto con el receptor fosfolipídico presente en la membrana celular, y sobre todo lisosomal, a través de una secuencia de actos explicada previamente. De ello surge la hipótesis actualmente aceptada para explicar la nefrotoxicidad por AG:

-La teoría de la **RUPTURA LISOSOMAL**.

-Otros mecanismos evidenciados en animales no han podido ser demostrados en humanos a dosis terapéuticas, y cuando aparecen lo hacen como consecuencia de la ruptura de lisosomas: **DISFUNCION MITOCONDRIAL** ⁽³⁵⁾ ⁽²⁵⁾ e **INHIBICION**

DE ATPasa ⁽¹⁷⁾. Así, se ha comprobado en modelos experimentales la liberación de Fe mitocondrial del compartimento no heme -no citocromo- mediado por radicales hidropéroxido, que intervendrían en los modelos de lesión tisular inducido por GN y en el deterioro del transporte de AG a través de la membrana celular ⁽³⁶⁾.

La **RUPTURA LISOSOMAL** ⁽³⁷⁾ ocurre al interferir los AG en el mecanismo de catabolismo de los fosfoglicéridos de membrana de las CTP del riñón. Se ha comprobado que tras ser sometida la Fosfatidilcolina a la acción catalítica de la Fosfolipasa A1 y A2, y desdoblarse en un ácido graso (bien palmitato u oleato) y α - o β -lisofosfatidilcolina, el AG **inhibe la hidrólisis** de estos productos por la β - y en menor medida por la α -Lisofosfolipasa. De este modo: (a) los productos no se desdoblan en colina y en un nuevo ácido graso, y (b) los compuestos intermedios de lisofosfoglicéridos inestabilizan la membrana lisosomal, con lo que su contenido queda libre dentro del citosol, induciendo el daño celular.

La severidad de las alteraciones lisosomales depende de dos factores:

-La capacidad de absorción tubular del AG, que presenta umbral y resulta característica para cada uno.

-La potencia intrínseca inhibitoria sobre la Fosfolipasa lisosomal, que es propia de cada AG, se halla relacionada con el número, naturaleza y posición de los grupos amino, pues la interacción con los fosfoglicéridos es electrostática ⁽³⁷⁾. De este modo los AG con mayor potencia inhibitoria son la Dibekacina , Gentamicina y Tobramicina, mientras los de menor actividad son la Estreptomina y Amikacina (actividad de fosfolipasa en cortex renal humano tras cuatro días de tratamiento

convencional de 0.5 mU/mg de proteína en el primer grupo frente a 1 mU/mg en el segundo grupo y controles) ⁽²¹⁾.

La inhibición del metabolismo de los fosfoglicéridos no es exclusiva de los AG, pues puede encontrarse en un grupo misceláneo de drogas ⁽²¹⁾ -siendo en muchas ocasiones el mecanismo oscuro: antidepresivos tricíclicos, anorexígenos, cloroquina, macrólidos, antiarrítmicos y misoprostol.

La inhibición de la Fosfolipasa lisosomal es el dato fisiopatológico más notable de los AG, pero también inhiben algunas β -hexosaminidasas y la Esfingomielinasa, aunque su papel etiopatogénico en la inducción del daño de las CTP se considera nulo, y como se verá más tarde se reserva como marcador diagnóstico. Sin embargo los AG no alteran la actividad: (a) de otras enzimas lisosomales como la Catepsina B o Fosfatasa Acida ni (b) de enzimas del retículo endoplásmico -Glucosa-6-Fosfatasa-, del "borde en cepillo" -Alanin-aminopeptidasa o Lactatodeshidrogenasa- o citosólicas -Fosforilasas ⁽³⁸⁾.

4.NEFROTOXICIDAD EXPERIMENTAL POR AG

Los estudios experimentales han colaborado a conocer la fisiopatología de los aminoglucósidos en el riñón y su mecanismo de afectación tubular, tal y como se ha mostrado. Por ello nos vamos a referir en este apartado a: (a) los factores que modifican la nefrotoxicidad experimental y (b) las estrategias que se derivan de ello para evitarla.

Los factores que modifican la nefrotoxicidad experimental pueden subdividirse en dos subgrupos ⁽³⁹⁾:

(a).Factores que incrementan la nefrotoxicidad:

-Dosis frecuentes, ya descrita por Bennett ⁽⁴⁰⁾ en 1979, y confirmada posteriormente por otros autores, y que iniciaron la investigación sobre modificación de intervalo de dosificación en la práctica clínica.

-Edad avanzada, por su menor capacidad de regeneración celular; sin embargo algunos autores no lo consideran factor de riesgo si se ajusta la dosis a la función renal real.

-Sexo masculino, aunque revisiones retrospectivas en estudios clínicos aportan una mayor susceptibilidad en hembras ⁽⁴¹⁾.

-Acidosis, hipovolemia y depleción de sodio; sin embargo los suplementos de sal y la alcalosis no previenen el daño renal.

-Hipokaliemia, en relación con la inhibición de la ATPasa Na/K.

-Hipomagnesemia, pues el Mg es un inhibidor de la permeabilidad de la membrana mitocondrial ante cationes monovalentes, por lo que su déficit induciría edema de la organela y alteración de la cadena respiratoria.

-Hiperfosforemia, mediante un mecanismo no aclarado.

-Hepatopatía inducida experimentalmente, y por mecanismo impreciso.

-Drogas: vancomicina, teicoplanina, metoxiflurano, ciclosporina, cisplatino, diuréticos.

(b). Factores que reducen la nefrotoxicidad:

-Intervalos de dosificación prolongados.

-Animales jóvenes y hembras.

-Normovolemia.

-Suplementos de potasio.

-Suplementos de zinc, que induce síntesis de metalotioneína en CTP para eliminar los radicales libres generados por el AG.

-Suplementos de calcio, en posible relación con su capacidad de inhibidor competitivo de la unión de los AG a fosfolípidos de membrana.

-Administración de hormonas tiroideas, en relación con mecanismo similar al de suplementos de K: modificación de actividad de ATPasa.

-Poliaminas (poliaspártico, polilisina, poliasparagina): se hipotetiza que forman complejos con los AG a nivel citoplásmico, impidiendo su migración.

-Carboxi y ureidopenicilinas, por su alto contenido en sodio.

-Bloqueantes de los canales del calcio tipo verapamilo, por mecanismo posible vascular.

-Diabetes mellitus inducida por estreptozocina: mecanismo desconocido, aunque se ha reconocido disminución del número de receptores para AG en las CTP.

Las estrategias que están en estudio para reducir la nefrotoxicidad que se derivan de los datos anteriores son ⁽⁴²⁾:

<u>Estrategia</u>	<u>Objetivo</u>	<u>Método</u>	<u>Aplicación clínica</u>
Reducir captación de AG	Reducir captación de AG en "membrana en cepillo"	Saturar receptores Utilizar aniones secretados por CTP	Administrar monodosis Coadministración de ureidopenicilinas
Reducir fosfolipidosis lisosomal	Reducir unión de AG a fosfolípidos lisosomal	Usar AG con escasa capacidad intrínseca de unirse Desplazar el AG del fosfolípido	Amikacina o isepamicina Coadministración de poliaminas o calcio
Reducir necrosis tubular	Aún incierto	Mantener lesiones subletales bajo umbral crítico Reducir aniones superóxido	Utilizar la menor dosis y el menor tiempo Evitar combinación con drogas nefrotóxicas e hipmagnesiémicas Suplementos de zinc
Incrementar regeneración	Aún incierto	Administrar factores de crecimiento	No disponibles

Ya se han descrito los fracasos con suplementos de sodio y potasio.

5.NEFROTOXICIDAD CLINICA POR AG

La incidencia de nefrotoxicidad en los distintos estudios es variable debido a:

-Heterogeneidad de pacientes incluidos. Así muchos estudios no han cuantificado la severidad de la enfermedad de sus pacientes.

-Criterios diversos para definir nefrotoxicidad, que han incluido cilindruria, alteraciones en los niveles séricos de creatinina y su aclaramiento, enzimuria y fosfolipiduria. Sin duda resultará esclarecedor mostrar los diferentes criterios

utilizados para definirla sobre un parámetro -el incremento de creatinina- en los distintos estudios realizados (sólo se referirá el primer autor que lo utilizó):

<i>Autor</i>	<i>Definición de nefrotoxicidad</i>
<i>Smith</i> ⁽⁴³⁾	$\Delta\text{Crea} > 0.4 \text{ mg/dl}$ para un valor basal $< 3 \text{ mg/dl}$ $\Delta\text{Crea} > 0.8 \text{ mg/dl}$ para un valor basal $< 3 \text{ mg/dl}$
<i>Kumin</i> ⁽⁴⁴⁾	$\Delta\text{Crea} > 1/3$ del valor basal
<i>Lerner</i> ⁽⁴⁵⁾	$\Delta\text{Crea} > 50\%$ y $> 0.5 \text{ mg/dl}$ sobre el valor basal
<i>Hou</i> ⁽⁴⁶⁾	$\Delta\text{Crea} > 0.5 \text{ mg/dl}$ para un valor basal $< 1.9 \text{ mg/dl}$ $\Delta\text{Crea} > 1 \text{ mg/dl}$ para un valor basal entre 2 y 4.9 mg/dl $\Delta\text{Crea} > 1.5 \text{ mg/dl}$ para un valor basal $> 5 \text{ mg/dl}$

-AG utilizado en cada estudio.

-Ausencia de criterios metodológicos y estadísticos definidos; casi ningún autor calcula la potencia de su estudio.

Del metaanálisis de los diferentes estudios puede concluirse ^{(47) (48)}:

-No hay demostrada claramente una mayor nefrotoxicidad de un AG concreto en estudios randomizados sobre dosis fraccionadas convencionales, aunque parece haber una tendencia, no estadísticamente significativa, de menor afectación renal por tobramicina y amikacina ⁽¹⁹⁾.

-En pacientes con bajo riesgo de nefrotoxicidad hay poca diferencia entre los distintos AG, y si ocurre insuficiencia renal será moderada y reversible. Sin embargo en pacientes de alto riesgo, la elección de un AG en particular quizás pueda influir en el desarrollo o no de nefrotoxicidad ⁽⁴⁴⁾.

Por ello resulta interesante definir los factores que modifican el riesgo de desarrollo de nefrotoxicidad en clínica humana. Y estos son ⁽¹⁾ ⁽⁴⁹⁾:

(a). Factores que incrementan riesgo de nefrotoxicidad, que pueden subdividirse en:

(a.1). Dependientes del paciente:

-Edad avanzada; recientemente algún análisis multivariante no lo identifica como factor de riesgo cuando se ajusta dosis a función renal real ⁽⁴¹⁾.

-Nefropatía previa; estudios recientes no encuentran mayor incidencia de nefrotoxicidad si se ajusta la dosis a la función renal ⁽⁴¹⁾.

-Sexo varón, de mecanismo desconocido; algún estudio aislado ha encontrado paradójicamente una mayor incidencia en mujeres ⁽⁴⁹⁾.

-Depleción de volumen e hipotensión.

-Hepatopatía crónica subyacente, validado en estudios prospectivos, posiblemente debido a disminución del FPR por vasoconstricción intrarrenal y a depleción de volumen por ascitis ⁽⁴¹⁾.

-Hipoproteinemia, como expresión del estado nutricional.

(a.2). Dependientes del AG:

-Tratamiento reciente con AG, cuyo mecanismo es difícil de definir así como el periodo de tiempo previo que supone riesgo; algún autor considera que se relaciona con la larga vida media por acúmulo tisular ⁽¹¹⁾.

-Dosis altas y superiores a las adaptadas para su función renal durante suficiente periodo de tiempo; exposiciones accidentales masivas inferiores a un día no han producido necrosis tubular.

-Duración de tratamiento superior a 3 días; algún autor aislado coloca el dintel en 11 días ⁽⁴⁹⁾.

-Clase de AG: como se ha explicado antes no se ha demostrado de modo significativo una mayor incidencia de nefrotoxicidad de un AG concreto, aunque se observa cierta tendencia superior por parte de la GN ⁽⁴³⁾.

-Frecuencia de intervalo de dosificación: a mayor intervalo menor riesgo.

-Niveles séricos de AG ⁽⁴¹⁾ ⁽⁵⁰⁾. Este es el factor en el que más estudios se han centrado, valorándose en los años setenta tanto el pico como el valle como factores predictivos de nefrotoxicidad; sin embargo pronto el primero se relacionó más con la eficacia, y el valle con el aclaramiento renal de la droga. De tal modo que actualmente un valle alto medido en estado estable farmacocinético se considera que es consecuencia, y no causa, de disfunción renal, ya que los AG se excretan casi exclusivamente por vía urinaria. Así el valor que se puede dar en la actualidad a los niveles séricos es el de adaptar el régimen de dosificación más apropiado al paciente, pues así se mide de modo indirecto su aclaramiento renal. Además los métodos individualizados de dosificación mediante farmacocinética bayesiana, a pesar de conseguir superiores ratio pico/MIC y cierta tendencia a menores valles, no ha conseguido disminuir la incidencia de nefrotoxicidad.

No se ha conseguido establecer una combinación de factores de riesgo con suficiente sensibilidad y valor predictivo de aparición de nefrotoxicidad (nunca se ha alcanzado el 30%). La especificidad sin embargo ha alcanzado en alguna ocasión valores superiores al 90% ⁽⁴⁹⁾.

(a.3). *Medicación concomitante: la determinación de esta variable resulta difícil en pacientes con enfermedades severas que reciben antibioticoterapia múltiple; además la mayoría de los estudios carecen de grupo control con monoterapia con AG. Así se han implicado: vancomicina, amfotericina B, clindamicina, cefalosporinas de primera generación, ureidopenicilinas, metoxiflurano, foscarnet, cisplatino, ciclosporina y agentes de contraste radiológico.*

(b). *Factores que disminuyen el riesgo de nefrotoxicidad ⁽¹⁾(49):*

- Edad joven, normotensos, con función hepática y renal normales.
- Dosis de AG bajas con duración inferior a 3 días.
- Régimen de monodosis diaria; se encuentra obviamente en estudio.
- Coadministración de carboxipenicilinas, por su alto contenido en sodio.
- Valles séricos bajos, como expresión de aclaramiento renal apropiado.

Los patrones clínicos de nefrotoxicidad por AG son ⁽¹⁾:

Alteraciones reversibles y precoces:

Cilindruria

Excreción aumentada de Potasio y Magnesio

Enzimuria lisosomal: NAG, Lisozima, AAP ocasionalmente FAL.

Proteinuria de Bajo peso molecular: BMG y proteína Ligadora de Retinol (RBP).

Fosfolipiduria.

Fracaso renal no oligúrico, con FENa elevado por alteración del manejo tubular de sodio, incapacidad por mantener hipertonicidad del intersticio medular, y resistencia tubular funcional a la ADH al interferir el AG con la Adenilatociclasa ⁽⁵¹⁾.

Síndrome de Fanconi, excepcional.

La incidencia de nefrotoxicidad ^{(18) (19) (43) (45) (48) (49)} por AG es variable en los distintos estudios, oscilando entre 0 y 50%, con un rango de frecuencia máximo entre 5-30%. De modo prospectivo ⁽⁴⁶⁾ se ha comprobado que la insuficiencia renal aguda por AG supone el 7-10% de los episodios intrahospitalarios de deterioro de función renal. De ello se deduce: (a) la importancia económica y sanitaria que supone disminuir la incidencia de tal evento por uso de estos antimicrobianos, y (b) el interés que supone el uso de marcadores más precoces de alteración de la función renal. En la siguiente tabla se describen los estudios clínicos más importantes en la definición de este problema.

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>AG.Dosis</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Comentarios</u>
Smith 1977 (43)	124 pac. con sospecha de BG(-)	GN vs. Amika Dosis adaptada para pico de GN entre 5-10 µg/ml	GN 18% vs. Amika 14% (p 0.05). Criterio de Nt:Crea > 0.4 y 0.8 mg/dl para valor basal < y > 3 mg/dl.	Respuesta clínica favorable en ambos grupos. No define error β ni potencia del estudio.
Lerner 1977 (45)	53 pac. con sospecha de BG(-)	GN vs. Amika GN: 5-6 mg/día Amika: 15-18 mg/día	GN 15% vs. Amika 0% Criterio de Nt: ΔCrea > 50% y valor > 1.5 mg/dl (p 0.05)	No define eficacia No define error β No estudia factores de riesgo
Keating 1979 (52)	285 pac. neutropénicos con infecciones severas	GN 75mg/m ² /6h Amika 200 mg/m ² /6h Siso 40 mg/m ² /6h	GN 15% vs. Amika 8% vs. Siso 22% (p0.05)	Usan infusión continua.
Plaut 1979 (53)	Pacientes de UCI y sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Tobra	GN 36% vs. Tobra 23% (p 0.02) Criterio de Nt:Crea > 0.5 mg/dl	Estudio no randomizado No define error β
Smith 1980 (54)	146 pac. con infecciones graves por BG(-)	GN vs. Tobra 2 mg/kg/8h	GN 10% vs. Tobra 11% (p 0.05) Criterio de Nt: ΔCrea > 0.5 y 1 mg/dl para valor basal < y > 3 mg/dl.	Define error β y tamaño
French 1981 (55)	50 pac. con infecciones graves por BG(-) en UCI	GN 3-5 mg/kg/d Amika 9-15 mg/kg/d	GN 16% vs. Amika 20% (p 0.05). Criterio de Nt: Crea > 0.5mg/dl, BMG urinaria 50 mg/d, cilindruria, acúmulo tisular de AG.	No define error β ni tamaño Población presenta ya basal deterioro de función renal
Schentag 1981 (56)	257 pac. de UCI y sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Tobra Dosis individualizada según niveles séricos.	Criterio clínico de Nt: Crea > 0.5mg/dl GN 21% vs Tobra 10% Criterio patológico de Nt: Acúmulo tisular > 200 mg ó ΔBMG urinaria GN 37% vs. Tobra 22%	No define error β ni tamaño Población presenta ya basal deterioro de función renal El grupo de tobra presenta pacientes con admón. previa de otros AG.

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>AG.Dosis</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Comentarios</u>
Kumin 1982 (44)	62 pac. con sospecha de infección por BG(-).	GN vs. Tobra Dosis individualizada según niveles	GN 55% vs. Tobra 15% (p 0.05) Criterio de Nt: Crea > 1/3 del valor basal.	No define error β ni tamaño Estudio no randomizado
Feig 1982 (57)	54 pac. con sospecha de infección por BG(-).	GN vs. Tobra Dosis individualizada según niveles	GN 40% vs. Tobra 28% (p > 0.1) Criterio de Nt: Δ Crea > 0.3 mg/dl	No define error β ni tamaño El estudio muestra Δ NAG con AG, sin diferencia entre GN y Tobra El estudio muestra Δ BMG con AG, sin diferencia entre GN y Tobra
Matzke 1983 (50)	317 pac. con sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Tobra Dosis individualizada según nomograma	GN 10% vs. Tobra 18% (p 0.05) Criterio de Nt: Δ Crea > 0.5 mg/dl o >30% si Crea basal o 2 mg/dl	Define error β y tamaño aunque 120 p.no acabaron el estudio No objetivaron factores de riesgo para nefrotoxicidad
Holm 1983 (58)	135 pac. con sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Amika Dosis individualizada	GN 20% vs. Amika 6% (p 005) Criterio de Nt: Δ Crea > 1/3 del valor basal	Estudio randomizado Eficacia clínica similar
Moore 1984 (41)	214 pac. con sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Tobra Dosis según nomograma para conseguir pico: 5-10 mg/dl	GN 10% vs. Tobra 8% (p 0.05) Criterio de Nt: Descenso del aclaramiento de Crea > 50%	No define error β
Lerner 1986 (45)	106 pac. con sospecha de infección por BG(-)	GN vs. Amika GN 1.7 mg/kg/8h Amika 6 mg/kg/8h	GN 15% vs. Amika 0% (p 0.05) Criterio de Nt: Δ Crea > 50% y de 0.5 mg/dl sobre valor basal	No define error β ni tamaño Correlación de Nt con edad y bacteriemia
Sawyer 1986 (39)	338 pac. con sospecha de infección por BG(-)	GN. Dosis individualizada para alcanzar valle < 2 mg/dl	GN 17% Criterio de Nt: Descenso del aclaramiento de Crea > 50%	No define factores de riesgo

Se incluyen solo los estudios que incluyen a la GN en la determinación de la nefrotoxicidad.

*Un concepto debatido y aún no aclarado es la **relación entre el acúmulo renal de AG y el desarrollo de nefrotoxicidad**. El modo de estudio es bien distinto en modelos animales -en que se puede determinar de modo directo la concentración tisular- que en estudios clínicos donde hay que acudir a determinaciones del acúmulo renal utilizando modelos farmacocinéticos.*

En estudios animales hasta el año 1985 se consideraba que existía correlación entre el depósito cortical de AG y la aparición de nefrotoxicidad ⁽⁵⁹⁾; sin embargo Brier y col.⁽⁶⁰⁾ demostraron ese año que la correlación se establecía con la captación tubular y la toxicidad intrínseca de cada AG, aún cuando era bien obvia que la inhibición de las fosfolipasas lisosomales se relacionaba con la dosis de AG.

Por contra en clínica humana, la imposibilidad de medir directamente el acúmulo cortical obligó a acudir a modelos teóricos que mostraban tal correlación; sin embargo en la actualidad se desconoce si esto es real.

6.INDIVIDUALIDAD DE CADA AG

A pesar de que los AG comparten una serie de características farmacocinéticas comunes, el comportamiento concreto es diferente para cada uno, lo que condiciona que cualquier estudio realizado sólo tenga validez para ese determinado AG, pero no necesariamente para el resto, aún cuando debido a nuestros límites metodológicos seamos incapaces de demostrar diferente incidencia de nefrotoxicidad entre los distintos AG en la clinica humana.

Así, se emumeran los resultados de los estudios comparados realizados entre los distintos AG sobre su fisiopatología:

*(1).La **albuminuria** inducida por el FG de los AG, así como la "**proteinuria de bajo peso molecular**" (BMG, lisozimuria, RBP) inducida por el daño sobre la "membrana en cepillo" no han sido motivo de estudio comparado.*

*(2).La **captación de AG a través de receptores** que siguen una determinada **cinética**, saturable o no, y de **baja afinidad** se ha estudiado de modo comparado, y resulta variable.*

*La afinidad de los AG por los receptores de membrana se mide en humanos de modo indirecto mediante la determinación de la "**Fracción de Excreción del AG**" (FEAG). Contrepois y col.⁽⁶¹⁾ lo han medido en individuos sanos, y han encontrado dos características:*

Una gradación de la potencia afín al receptor: máxima para la GN y mínima para la netilmicina:

$$FE_{GENTAMICINA} = 79 \pm 6\% \quad FE_{DIBEKACINA} = 81 \pm 22\%$$

$$FE_{TOBRAMICINA} = 85 \pm 5\% \quad FE_{NETILMICINA} = 99 \pm 19\%$$

Una captación saturable en la Amikacina, pues su FE aunque variable según la dosis, no sigue una cinética lineal:

$$FE_{AMIKA}(1 \text{ mg/kg/h}) = 83 \pm 4\% \quad FE_{AMIKA}(4 \text{ mg/kg/h}) = 124 \pm 13\%$$

La afinidad de los AG por los receptores se ha medido también de modo más grosero valorando el porcentaje de dosis acumulada en cortex renal en un determinado periodo de tiempo. DeBroe y col.⁽²⁷⁾ sobre riñones de pacientes con hipernefroma que recibieron un determinado AG previo a la nefrectomía han determinado tal parámetro a las 24 horas del tratamiento:

Netilmicina = 12% de dosis total administrada

Gentamicina = 10.5% de dosis total administrada

Tobramicina = 7.4% de dosis total administrada

Amikacina = 3.2% de dosis total administrada

Giuliano y col⁽⁶²⁾, sobre cortex de rata, encontraron el máximo acúmulo con la GN, menor con netilmicina y amikacina, y mínimo con la tobramicina. Estos resultados discretamente dispares entre los obtenidos por los dos métodos son atribuibles a que en el acúmulo renal intervienen más factores que la propia afinidad por la membrana en cepillo valorada por la FE_{AG} .

La cinética de captación tubular de los AG se mide de modo indirecto en grupos homogéneos de población, ratones, que se sacrifican para valorar de modo seriado el acúmulo cortical de AG. Varios autores lo han estudiado y sus resultados son concordantes^{(13) (27) (629) (63)}:

Gentamicina y Netilmicina siguen cinética saturable, según Michaelis-Menten. Sus V_{max} y K_m son similares -que expresan la máxima captación de AG y la afinidad de la droga por los receptores respectivamente.

Tobramicina sigue cinética lineal al menos hasta dosis equivalentes humanas con utilidad clínica.

Amikacina sigue cinética mixta, saturable a concentraciones séricas bajas y patrón lineal a niveles séricos altos.

Además se ha demostrado, como se verá más adelante, que la cinética de captación tubular de AG resulta variable según el método de administración (infusión continua versus fraccionada) y de dosificación (monodosis versus convencional).

Por último, de los estudios de Giuliano y col.⁽¹³⁾ en modelos animales se deduce que: (a) la GN y netilmicina probablemente comparten receptores en la membrana en cepillo, pues la administración simultánea de ambas drogas en concentraciones equimolares disminuye el acúmulo renal de ambos AG en al menos un 20%, y (b) la tobramicina debe presentar diferentes receptores, pues su captación no se interfiere por el uso simultáneo de otros AG. La amikacina no ha sido estudiada en este aspecto.

*(3).La **enzimuria lisosomal** será tratada más en profundidad en su apartado correspondiente.*

*(4).La **pinocitosis** comparada entre los AG tampoco ha sido estudiada.*

(5). *La interacción entre los AG y los fosfolípidos de membrana y lisosomas es variable según la dosis y el AG utilizado.*

La diferente capacidad de inhibición de las Fosfolipasas lisosomales se valora mediante el cálculo de la concentración que causa el descenso de actividad del 50% de la enzima, medido mediante la hidrólisis de un sustrato, habitualmente el palmitoil-2-(1-¹⁴C)oleil-fosfatidilcolina, sobre fibroblastos humanos (IC_{50s}). Así los valores obtenidos por Carlier y col. son⁽³⁷⁾:

<u>Aminoglucósido</u>	<u>IC50s(μg/ml)</u>	<u>IC90s(μg/ml)</u>
Dibekacina	40 +/-10	67 +/-7
Sisomicina	48 +/-2	65 +/-3
Gentamicina	52 +/-9	73 +/-6
Tobramicina	53 +/-3	77 +/-8
Kanamicina	54 +/-4	77 +/-5
Netilmicina	57 +/-3	78 +/-6
Amikacina	85 +/-4	143 +/-6
Estreptomina	238 +/-30	>333

De ello se deduce que tanto la GN como la Tobramicina y Netilmicina poseen una importante y similar capacidad de inhibición de las fosfolipasas, siendo menor la de la Amikacina, y mínima la de la Estreptomina.

Además, de ello se deduce que la inhibición de las fosfolipasas es directamente proporcional a la concentración de AG en el medio.

Estudios sobre modelos en membrana eritrocitaria de metabolismo del fosfoinosítido confirman los datos anteriores⁽⁶⁴⁾.

La razón de la diferente capacidad inhibitoria de los AG sobre las fosfolipasas hay que encontrarla en dos hechos:

-La diferente carga catiónica a pH de 7.4: de +3.48 para la netilmicina, de +3.46 para la GN y de +3.10 para la tobra, con lo que la interacción con los fosfolípidos es diferente ⁽⁶⁵⁾.

-El número, naturaleza y posición de los grupos amino en la molécula del AG: así la GN, dibekacina, tobramicina y kanamicina B tienen cinco grupos amino y se comportarían igual; la metilación de un único grupo amino que ocurre en los dos últimos no afectaría su actividad inhibitoria. Sin embargo la metilación de todos los grupos amino reduciría en la Kanamicina A su capacidad inhibitoria ^{(1) (37)}.

(6).La integración en los lisosomas del AG se valora se valora mediante sus efectos ⁽²¹⁾:

-La presencia de cuerpos mieloides: máxima para la netilmicina, intermedia para GN y tobramicina y menor para la amikacina.

-El incremento del volumen lisosomal, que representa el 4% del total celular para GN, tobramicina y amikacina, mientras supone el 2% en el grupo control.

(7).No se ha estudiado la integración comparada de AG en mitocondrias o ribosomas.

(8).El daño histológico medido mediante un score (que incluye: degeneración, necrosis, dilatación y basofilia tubular, inflamación peritubular y fibrosis intersticial) ha sido valorado en modelos animales ⁽⁶⁶⁾ y a dosis bajas (para evitar enmascaramiento con regeneración tubular) ha constatado una jerarquización a dosis

equivalentes humanas, siendo máximo con la GN, intermedia con netilmicina (aunque a dosis altas se equiparan al de la GN) e inferior con la amikacina.

Igualmente la capacidad de regeneración resulta diferente para cada AG.

(9).El acúmulo cortical de AG es diferente para cada AG, con una cinética y afinidad específica^{(19) (21)}. Para la netilmicina del 12%, para GN del 10.5%, para tobramicina del 7.4% y para amikacina del 3.2% de la dosis total administrada y tras el primer día de tratamiento⁽⁶⁷⁾. Además el incremento del acúmulo se correlaciona con la dosis, aunque tal aumento es variable según el modo de administración, tal y como se verá más adelante.

La distribución corticomedular del AG también resulta variable según el AG en cuestión⁽¹²⁾:

<u>Aminoglicosido</u>	<u>% de acúmulo en cortex</u>	<u>% de acúmulo en intersticio</u>
Netilmicina	62%	21%
Amikacina	67%	21%
Gentamicina	45%	45%
Tobramicina	31%	44%

(10). No se ha estudiado el diferente comportamiento ante distintos AG de: el sistema renina-angiotensina-aldosterona, la liberación de aniones superóxido, la endotelina segregada por mesangio y arteriolas, el óxido nitroso producido y el comportamiento de la PG.

A pesar de ser objetivo el diferente comportamiento de los AG en su perfil farmacocinético y anatomopatológico, esto no se ha plasmado en una diferente incidencia de nefrotoxicidad clínica entre los diferentes AG. De ahí se deriva la imposibilidad de generalizar los resultados obtenidos por un AG a los demás.

Y ello probablemente sea debido a que en los estudios clínicos comparativos aparecen dificultades metodológicas: error β por el pequeño tamaño, ausencia de randomización, heterogeneidad en la definición de nefrotoxicidad, etc. Así cuando se compara GN frente tobramicina no se ha encontrado diferencias significativas, salvo en un estudio. Cuando se comparan GN frente amika igualmente sólo un estudio demuestra diferente nefrotoxicidad. Mientras, ningún estudio ha demostrado diferencia significativa entre GN y netilmicina.

***CARACTERISTICAS
FARMACODINAMICAS
DE LOS
AMINOGLUCOSIDOS***

*La pauta de administración de antimicrobianos se ha basado siempre en el mantenimiento de sus niveles séricos por encima de la MIC el mayor periodo de tiempo posible, concepto que nace al trasladar los resultados de estudios farmacodinámicos realizados en animales infectados experimentalmente con cocos gram (+) y *Treponema pallidum* a voluntarios sanos⁽⁶⁸⁾ (69). Para ello los instrumentos utilizados en el laboratorio han sido la determinación de la MIC y de la MBC -la menor concentración de antibiótico que impide respectivamente el crecimiento visible y elimina el 99.9% de los organismos inoculados en medio de cultivo líquido tras 18-24 horas de incubación.*

Sin embargo estos métodos son incapaces de valorar: (a) los gradientes de concentración de antimicrobiano en relación con el tiempo que ocurren en el foco de infección in vivo, ni (b) el comportamiento de la actividad antimicrobiana en el tiempo, bien cuando los niveles de fármaco están por debajo de la MIC o bien cuando no existe antibiótico residual y se valora el efecto postantibiótico (PAE).

Por todo ello existen una serie de parámetros farmacocinéticos de identificación reciente que intervienen en la interacción antimicrobiano-gérmén, y de especial relevancia en los AG⁽⁷⁰⁾:

- Actividad bactericida, dependiente o no de la concentración.*
- Efecto sub-MIC.*
- Efecto postantibiótico (PAE).*
- Resistencia adaptiva.*

***ACTIVIDAD
BACTERICIDA DE LOS
AMINOGLUCOSIDOS***

1.ACTIVIDAD BACTERICIDA DE AG:

Los antibacterianos se clasifican atendiendo a su actividad bactericida en tres grupos. A nivel de los estudios cinéticos in vitro ⁽⁷¹⁾, y siguiendo la definición de Blaser:

(1).Antimicrobianos bactericidas: aquellos que reducen $>3 \log_{10}$ el recuento de unidades formadoras de colonias (cfu) tras 24 horas de incubación.

(2).Antimicrobianos moderadamente bactericidas: aquellos que reducen entre $1-3 \log_{10}$ el recuento de cfu tras 24 h. de exposición.

(3).Antimicrobianos no bactericidas: los que reducen $<1 \log_{10}$ el recuento de cfu tras 24 h. de incubación.

Así, según tal clasificación los tres grupos son los siguientes⁽⁷⁰⁾:

(1).Actividad bactericida concentración-dependiente: Aminoglucósidos, Quinolonas, Metronidazol.

Desde el comienzo de su uso se comprobó que la actividad bactericida aumentaba con dosis crecientes. Blaser⁽⁷¹⁾ y Gerber⁽⁷²⁾ han demostrado por separado en modelos cinéticos in vitro y en animales que niveles séricos pico elevados de AG se correlacionan con la mayor y completa actividad bactericida. Sin embargo el parámetro que ultimamente se ha demostrado se relaciona más íntimamente con la eficacia y tasa bactericida es el área bajo la curva concentración-tiempo (AUC) ⁽⁶⁸⁾.

(2).Actividad bactericida con dependencia pequeña de la concentración: Penicilinas, Cefalosporinas, Aztreonam.

La mayoría de los estudios han mostrado escasa dependencia de la tasa bactericida en relación con la concentración. Habitualmente muestran un modesto

incremento hasta que se alcanzan concentraciones de antibiótico 5-10 veces la MIC; a partir de ese momento la tasa de letalidad no aumenta, e incluso pueden adquirir exclusivamente propiedades bacteriostáticas a concentraciones 50-500 veces la MIC Eagle y Musselman además describieron el fenómeno que recibe su nombre, y que consiste en la reducción paradójica de la tasa de letalidad bacteriana in vitro a concentraciones altas de betalactámicos ⁽⁷⁰⁾. Estudios cinéticos in vitro han demostrado que el parámetro relacionado más íntimamente con la eficacia y tasa bactericida es el tiempo que permanecen los niveles séricos por encima de la MIC.

(3).Actividad bacteriostática: Macrólidos, Cloramfenicol, Tetraciclinas, Lincosamidas, Imipenem y Vancomicina.

Las curvas de letalidad muestran actividad bacteriostática frente a la mayoría de los organismos, aunque puedan presentar cierta capacidad bactericida frente a otros, aunque de pequeña intensidad, y de nula dependencia de la concentración.

El resumen de estas características puede realizarse en la siguiente tabla ⁽⁷³⁾:

<u>Antibiótico</u>	<u>Farmacodinámica</u>	<u>Regimen de dosificación</u>
Bactericida con- centración depen- diente	Bactericida a concentraciones altas PAE prolongados	Maximizar concentración Alcanzar picos y AUC altos
Bactericida con dependencia pe- queña de concen- tración	Bactericida a mínimas concentra- ciones (<5 veces la MIC) PAE prolongados	Maximizar tiempo de exposición Los niveles pueden permitirse que caigan por debajo de la MIC
Bacteriostáticos	Bactericida a mínimas concentra- ciones PAE corto o nulo	Maximizar tiempo de exposición Mantener niveles séricos por encima de la MIC

2.MECANISMO DE ACTIVIDAD BACTERICIDA DE AG:

El mecanismo de acción bactericida implica varios pasos secuenciales:

(1).ADHERENCIA DE AG, policationicos, a los fosfolípidos que constituyen los liposacáridos (LPS) de la membrana celular de los BG(-) ⁽⁷⁴⁾. La unión es pasiva, mediante enlaces electrostáticos, y el AG desplaza a cationes divalentes- calcio y magnesio- estabilizadores de membrana, alterando de este modo la unión entre las distintas moléculas de LPS.

La unión pasiva reúne las siguientes características ⁽⁷⁴⁾:

-Es dosis dependiente. Se correlaciona con la concentración de AG: estudiado para la netilmicina frente a la P. aeruginosa el coeficiente de correlación r entre la concentración de AG en el medio y la adherencia iónica es del 0.99.

-Es inversamente proporcional a las concentraciones de calcio y magnesio iónico en el medio; estudiado para la netilmicina frente a la P. aeruginosa el coeficiente de correlación r entre los niveles de cation divalente y adherencia iónica es de -0.93. Ello expresa antagonismo competitivo entre AG y calcio.

-Es imprescindible que los LPS estén íntegros para la adherencia del AG.

-Es un mecanismo no saturable, ya que no requiere energía.

-Se incrementa con el tiempo de exposición in vitro.

-Depende de la fase de crecimiento celular en que se encuentre la bacteria.

Es máxima cuando se expone antes de la fase G.

-Es variable el grado de adherencia entre especies de gérmenes. La variabilidad interespecie alcanza $>4 \log_{10}$ de tasa bactericida, mientras la intraespecie es $<1 \log_{10}$

-La unión iónica pasiva lanza el "mecanismo autopromocional de captación de AG".

-La unión iónica no constituye el determinante de la MIC.

(2)CAPTACION AUTOPROMOCIONADA DE AG. *La membrana celular, inestable tras la rotura de los enlaces entre LPS, permite la captación del antibiótico interaccionante mediante un proceso activo, fase denominada EDP-I ("energy-dependent phase")⁽⁷⁵⁾. El AG, que penetra en pequeñas cantidades, lo hace merced a la creación de un gradiente electroquímico obtenido de la cadena de transporte electrónico mitocondrial y de la fosforilización oxidativa, aunque no de la ATPasa de la membrana bacteriana⁽⁷⁶⁾. Las características de esta fase EDP-I son⁽⁷⁷⁾:*

-Requiere transporte activo, y se anula mediante inhibidores de la fosforilización oxidativa y quelantes del transporte electrónico⁽⁷⁵⁾.

-La proteína de transporte que utiliza el AG durante esta fase no ha sido identificada, aunque se conoce que corresponde a un complejo de membrana intermediario de alta energía que está acoplado al transporte electrónico y con actividad piridin-nucleótido-transhidrogenasa. Es un sistema de baja afinidad.

-Algunos autores⁽⁷⁸⁾ han identificado que se necesita un nivel crítico intracelular de AG tras la fase EDP-I para desencadenar la captación autopromocional y alcanzar actividad bactericida.

-Probablemente esta sea la fase limitante de la MIC frente a la mayoría de las cepas.

-El AG captado durante esta fase EDP-I interaccionará con ribosomas y

alterará la proteosíntesis, con lo que se posibilitará el paso masivo de AG durante la fase EDP-II.

-Se considera que esta fase de la captación se corresponde con la fase precoz, bactericida rápida y concentración dependiente, de las curvas de letalidad.

Tras penetrar una pequeña cantidad de AG durante la fase EDP-I al citosol celular, interacciona con la interfase entre las unidades mayor (50S) y menor (30S) de los ribosomas⁽⁷⁹⁾. De este modo se inicia una transcripción anómala de RNAm y síntesis de proteínas aberrantes, que se incorporan a la membrana celular, la alteran y permiten el paso masivo de AG en la denominada fase EDP-II⁽⁸⁰⁾. Las características de esta fase son:

-Es un mecanismo activo, que requiere energía.

-Es dependiente de la concentración de AG presente en el medio.

-Durante esta fase se llega a generar un gradiente superior a 100 veces en el interior celular respecto al intersticio⁽⁷⁹⁾.

-El daño celular resulta ya irreversible en cuanto se completa sólo un 25% de fase de la EDP-II.

*-El mecanismo de entrada no es bien conocido. Debido a que es precisa la interacción de los ribosomas para el acúmulo de AG en el interior celular durante esta fase, Bryan⁽⁷⁷⁾ hipotetiza que son los mismos ribosomas ligados a la membrana celular los lugares de alta afinidad que utilizan para atravesarla. En apoyo de esta tesis se reconoce que cepas mutantes de *P. aeruginosa* StrA, cuyos ribosomas son incapaces de ligarse a AG, carecen de fase EDP-II.*

-Existe importante variabilidad⁽⁷⁴⁾ interespecie, y mínima intraespecie. La captación de GN, netilmicina y amikacina son idénticas frente E.coli, P.mirabilis y E.aerogenes; frente F.cloacae, P.aeruginosa y S.marcescens la amika presenta notablemente mayor captación iónica y actividad bactericida.

3.CARACTERISTICAS DE ACCION BACTERICIDA DE AG:

La actividad bactericida de antimicrobianos se valora en el laboratorio mediante Curvas de Letalidad, que estudian el comportamiento a lo largo del tiempo en un caldo de cultivo de un germen cuando es enfrentado al antibiótico. Presenta dos limitaciones: aparición de cepas resistentes que alteren tales curvas y la imposibilidad de valorar la distribución heterogénea de la sensibilidad en grandes poblaciones bacterianas. En clínica se utilizan la: (a) Actividad Bactericida Sérica, que estudia la sensibilidad del germen aislado en el paciente al enfrentarse con suero del mismo y que contiene el antibiótico, lo que requiere conservar sangre del paciente y asumir que los niveles séricos reflejan lo que ocurre en el foco de infección, y (b) MIC y MBC, definidas anteriormente, y que enfrentan en condiciones experimentales el germen aislado a distintas concentraciones de antimicrobiano.

En base a esto se han reconocido las siguientes características en la actividad bactericida de los AG:

(a).EFECTO BACTERICIDA BIFASICO, que consta de⁽⁸¹⁾:

-Fase precoz, bactericida rápida, concentración dependiente. Se piensa que refleja las consecuencias de la adhesión iónica inicial. Según MacArthur⁽⁸²⁾ ocurre

durante la primera hora de exposición al AG, persistiendo durante al menos seis horas más la fase siguiente.

-Fase posterior, bactericida lenta, independiente de la concentración de AG. Se considera que expresa las limitaciones para el transporte de la droga durante la exposición prolongada al antibiótico, y representaría la aparición de la resistencia adaptiva por infrarregulación de la captación de AG según MacArthur⁽⁸²⁾, o bien el fenómeno recientemente descrito por Stanova⁽⁸³⁾ que observó una continua muerte de bacterias tras descender los niveles de AG por debajo de la MIC.

(b).NO PRESENTA EFECTO INOCULO.^{(70) (78) (84) (85)} *La actividad bactericida no depende del inóculo bacteriano. Así la MIC₉₀ permanece inalterable aunque el inóculo oscile entre 10⁵ y 10⁷ CFU/ml, por contra a lo que ocurre con betalactámicos.*

(c).ES CONCENTRACION DEPENDIENTE. *La actividad bactericida es directamente proporcional a la concentración de AG cuando los niveles séricos están por encima de la MBC^{(70) (84) (85)}. A partir de modelos experimentales y análisis clínicos se ha comprobado correlación entre la concentración pico de AG -o ratio pico AG/MIC- y la eficacia antibacteriana. Sin embargo el parámetro que mayor correlación guarda con la actividad bactericida es el "area bajo la curva concentración-tiempo" (AUC), que representa un equivalente de la dosis total⁽⁷⁰⁾.*

(d).NO DEPENDE DEL TIEMPO QUE PERMANECE SOBRE LA MIC que resulta característico de los betalactámicos⁽⁷⁰⁾. La eficacia antibacteriana depende de la concentración de AG, por lo que el intervalo de dosificación se puede prolongar siempre y cuando no se supere el tiempo sobre la MIC más la duración del PAE -además éste depende a su vez de la dosis⁽⁸⁷⁾.

(e).SE MODIFICA CON EL pH DEL MEDIO,⁽¹⁾ pues su actividad antibacteriana se incrementa en medio alcalino, mientras se reduce en pH ácido; y ello porque a pH de 7.4, los AG tienen alta carga positiva y son catiónicos -en concreto su pKa es de pH 8.4.

4.ACTIVIDAD BACTERICIDA CONCENTRACION DEPENDIENTE:

De todas las características descritas en el apartado anterior, la que tiene mayor importancia clínica es que la actividad bactericida, y presumiblemente la eficacia clínica, dependen de la concentración en el medio de cultivo, y tisular, del AG. En clínica no se puede medir directamente los niveles de fármaco en el sitio de infección, y debe realizarse una aproximación valorando los niveles séricos. Esta aseveración es válida de modo genérico, y por lo tanto cualquier modificación de los niveles séricos del AG afectarán a su concentración tisular y su acción bactericida. Por ello se desarrollarán los siguientes temas:

(1). Niveles séricos de AG como expresión de su concentración tisular. Factores farmacocinéticos y del huésped que influyen en ello.

(2). Parámetros farmacocinéticos dependientes de la concentración sérica de AG que afectan la eficacia de los AG.

(1). NIVELES SERICOS DE AG Y SU CONCENTRACION TISULAR. *Se ha comprobado que los niveles tisulares de AG fluctúan en proporción a los niveles séricos, tal y como se ha estudiado sobre secreciones bronquiales y biliares en animales y humanos⁽⁸⁸⁾.*

Se conoce que tal correlación depende de varios factores, unos dependientes de la farmacocinética del antibiótico, y otros dependientes del paciente. Los factores dependientes del antibiótico son⁽¹⁾:

-Tamaño molecular y estructura estereoquímica. Los AG tienen un peso molecular que oscila entre 445 y 600 daltons.

-Liposolubilidad: los AG son hidrófilos por lo que atraviesan el espacio extracelular mediante difusión pasiva.

-Capacidad de unión a proteínas, que en el caso de los AG es mínima.

-Modo de transporte a nivel de las secreciones. Sólo está estudiado de modo completo a nivel bronquial y biliar, donde se precisa un gradiente de concentración para la difusión pasiva, desde donde se aclara de modo rápido y sin tendencia a acumularse.

-Modo de captación, saturable o no.

-Modo de administración: desde los años setenta se ha comprobado que se

alcanzan distintas concentraciones bronquiales a isodosis dependiendo del régimen de administración. Las dosis fraccionadas con intervalos prolongados producen concentraciones tisulares superiores y picos más precoces que utilizando intervalos menores a dosis total similar. Además se comprobó para algunas cepas que el tiempo que permanece sobre la MIC el antimicrobiano puede ser superior cuando se utilizan intervalos prolongados, a isodosis, respecto a intervalos más breves de administración⁽⁸⁹⁾.

Los factores dependientes del paciente son^{(90) (91)}:

-El Volumen de Distribución (V_D) del AG, que resulta variable según: (a) las dosis aplicadas, pues en individuos sanos al no unirse a proteínas en la primera dosis el V_D resulta equivalente al volumen extracelular, de 0.25-0.30 l/kg, mientras en el estado estacionario tras múltiples dosis se produce acúmulo intracelular a través de un transporte irreversible y de alta afinidad, alcanzando un V_D de hasta 2 l/kg y un ratio tejido/sérico de 2:1, y (b) estado hemodinámico del paciente, ya que individuos sanos con su primera dosis presentan V_D de 0.20-0.25 l/kg, mientras en estado séptico alcanzan valores de 0.35 l/kg. Esto implica que pacientes con alto V_D -individuos sépticos, grandes quemados, diabéticos, con endocarditis o en UCI- requieran dosis iniciales de carga y totales superiores a las utilizadas de modo convencional para alcanzar concentraciones séricas y tisulares apropiadas con suficiente actividad bactericida.

-Vida media sérica ($t_{1/2}$) del AG y aclaramiento renal del mismo. Así mientras adultos sanos tienen $t_{1/2}$ de 2.4-4 horas para la GN, en individuos sépticos puede oscilar de 1-17 h. Esto representa la enorme variabilidad individual del aclaramiento

de AG, y que los niveles séricos sirven para monitorizar las dosis subsiguientes de AG mas que para predecir el desarrollo de nefrotoxicidad. Los estudios de regresión utilizados para correlacionar el aclaramiento de AG con la creatinina o su aclaramiento han fracasado y no han superado un coeficiente r superior a 0.5⁽⁹²⁾.

Como resumen se presenta la razón de proporción existente entre el espacio extracelular -medido sobre 1 gramo de homogeneizado de tejido de voluntarios sanos- y sérico, tanto de los AG, como de betalactámicos y quinolonas de modo comparativo⁽⁸⁹⁾:

<u>Organo</u>	<u>Ratio concentracion espacio extracelular/concentración sérica</u>		
	<u>Aminoglucósido</u>	<u>Betalactámicos</u>	<u>Quinolonas</u>
<i>L.cefaloraquideo</i>	0.08-0.25	0.1-0.3	0.2-0.4
<i>L.pleural</i>	1	1	1
<i>L.sinovial</i>	0.9	1	1
<i>L.peritoneal</i>	1	1	1
<i>Saliva</i>	0.05	0.05	1
<i>Orina</i>	>500:1	>200:1	>500:1

(b).PARAMETROS QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DE

AG. Mientras la obtención de una óptima actividad bactericida de los betalactámicos, macrólidos, vancomicina y cloramfenicol requiere el mantenimiento de los niveles séricos por encima de la MIC el mayor tiempo posible, los AG al igual que las quinolonas no dependen de este parámetro, sino de la concentración alcanzada y dosis total. Por ello algunos autores han abordado esta cuestión, lo que aparece reflejado en la tabla adjunta al final de este capítulo, y cuyas conclusiones se resumen a continuación:

-La concentración pico de AG se correlaciona directamente con la actividad bactericida. Picos de GN >5µg/ml se relacionan con buena evolución clínica en infecciones severas por BG(-), salvo en las neumonías, que requieren valores >8 µg/ml ⁽⁹³⁾. La no obtención de concentraciones séricas apropiadas se asocia a la aparición de bacteriemia de "brecha". Sin embargo concentraciones superiores a 10 mg/l en regímenes convencionales de GN puede incrementar innecesariamente la toxicidad sin aumentar la eficacia.

-Algunos autores introducen además el valor intrínseco de sensibilidad del germen en el estudio (ratio concentración pico de AG/MIC o MBC), ya que tiene en cuenta factores microambientales -pH, pO₂ tisular o concentración de cationes o aniones- que pueden afectar la eficacia bactericida. Las conclusiones son similares. Moore ⁽⁹⁴⁾ establece incluso una correlación entre el ratio pico GN/ MIC y la eficacia clínica, que se muestra a continuación, y tomando como valor unidad del riesgo relativo de respuesta favorable el que se presenta cuando el ratio es <1:

<u>Ratio pico GN/MIC</u>	<2	2-4	4-6	6-8	8-10	>10
<u>Riesgo relativo de respuesta favorable (IC₉₅)</u>	1	1.6	1.8	4.3	6.5	8.4
		(0.8-3.1)	(1-3)	(2.5-7.5)	(3.6-11.8)	(4.6-15.3)

Van der Auwera ⁽⁹⁵⁾ incluso establece la correlación de este parámetro con la actividad bactericida tanto en regímenes convencionales como en monodosis. Rotschafer ⁽⁹⁶⁾ recomienda en una revisión reciente alcanzar ratios pico AG/MIC de 10-20, asumiendo una MIC <4 mg/l, para la mayoría de las situaciones, siendo en el pulmón precisos ratios entre 16-20.

-Vogelman ⁽⁶⁸⁾ en el año '88 describe finalmente el parámetro que más fielmente influye sobre la actividad bactericida de los AG: el AUC, que representa

la dosis administrada, con un coeficiente de variación r^2 que alcanza el 78% de la tasa bactericida de la GN frente al E.coli , y del 66% de la actividad bactericida de Tobra frente la P.aeruginosa. Bastone ⁽⁸¹⁾ además demostró posteriormente que el pico sérico de AG es un factor independiente, aunque de menor potencia, de la AUC sobre la actividad bactericida de los AG. Además, isodosis administradas en regímenes fraccionados convencionales y en monodosis no presentan distintas AUC. Esta última aseveración presenta implicaciones clínicas, pues si sólo el AUC fuera el factor determinante de la dosis, el único modo de modificar la eficacia sería incrementando la dosis -con el riesgo consiguiente de toxicidad- mientras que la dependencia de la dosis nos permite además manipular los regímenes de administración para obtener picos séricos mayores, que incrementen la eficacia.

En la página siguiente se resume cronológicamente los parámetros que han sido implicados en la eficacia bactericida de los aminoglucósidos.

<u>Autor</u>	<u>Parámetro</u>	<u>Comentarios</u>
Noone.1974 (93)	Pico de GN y Tobramicina.	Pico de GN o Tobra > 5µg/ml en los tres primeros días se relaciona con eficacia clínica en infecciones severas por BG(-), excepto para neumonía en que se requiere valores >8µg/ml.
Tally.1975 (97)	Pico de Amikacina	Pico de Amikacina > 20 µg/ml se correlaciona con la eficacia clínica en infecciones severas por BG(-).
Anderson.1976 (98)	Pico de GN	Pico de GN describe la aparición de bacteriemia de "brecha" en pacientes con niveles séricos bajos.
Moore.1984 (100)	Pico de GN, Tobramicina y Amikacina	Picos de GN y Tobramicina > 6mg/l y de Amikacina > 24 mg/l se correlaciona con evolución clínica satisfactoria en neumonía por BG(-).
Sculier.1984 (99)	Actividad Bactericida Sérica de GN y Amikacina	CBS > 1:8 en pacientes normales y de >1:16 en pacientes neutropénicos se relaciona con respuesta clínica favorable en infecciones severas por BG(-).
Blaser.1985 (71)	Ratio Pico AG/MIC	Ratio AG/MIC elevados en modelo animal se relaciona con la ausencia de emergencia de cepas resistentes.
Moore.1987 (94)	Ratio Pico AG/MIC	Ratios GN/MIC y Tobramicina/MIC se correlacionan en infecciones severas por BG(-) con la eficacia clínica. Ratios GN/MIC >4 suponen una disminución del riesgo de evolución desfavorable.
Van der Auwera 1987 (95)	Ratio Pico AG/MBC	Establece correlación entre ratio pico netilmicina/MBC y actividad bactericida sérica (SBA) en pacientes con infecciones urinarias por BG(-).
Vogelman.1988 (68)	AUC	Establece correlación entre área bajo la curva concentración-tiempo (AUC) y la eficacia clínica, siempre y cuando no exceda al tiempo en que niveles séricos sean superiores al que permanece sobre la MIC y al del PAE. Se interpreta AUC como dosis total. Correlaciona AUC con el pico de AG. Los estudios se realizan tanto con regímenes fraccionados convencionales y con monodosis.
Van der Auwera 1991 (101)	Ratio Pico GN/MBC	Establece correlación establecida cuatro años antes entre el ratio pico GN/MBC y actividad bactericida sérica en pacientes con infecciones severas por BG(-), y en régimen fraccionado tanto convencional como en monodosis.

***EFEECTO
POSTANTIBIOTICO
EN LOS
AMINOGLUCOSIDOS***

EFEECTO POSTANTIBIOTICO (PAE):

El PAE se define como la supresión del crecimiento bacteriano que persiste después de cortas exposiciones a antimicrobianos y en ausencia -o en presencia de cantidades muy pequeñas- del mismo^{(102) (103) (104)}. Tal inhibición del crecimiento por tanto no es debida a la presencia de antibiótico en el medio.

Tal fenómeno se ha descrito para todos los antibacterianos en relación con sus gérmenes sensibles.

Tiene una gran importancia clínica al permitir prolongar el intervalo de dosificación más allá del tiempo en que permanece la concentración sérica del antibiótico por encima de la MIC, que constituye el modo convencional de diseño de administración de medicamentos.

*Este fenómeno ya fue descrito precozmente por Bigger en 1944, cuando observó retraso en el crecimiento de *Streptococo sp.* previamente expuestos a penicilinas y tras añadir penicilasas. Parker posteriormente confirmó este hecho in vivo⁽¹⁰⁴⁾. Sin embargo hasta finales de los años setenta no se extendieron estas observaciones a los BG(-), y a antibióticos distintos a las penicilinas⁽¹⁰²⁾.*

1.MECANISMO DE PAE:

La naturaleza del PAE sigue siendo un misterio, aunque se especulan con dos teorías⁽¹⁰³⁾:

(a).*DAÑO SUBLETAL. El PAE representaría el tiempo que persistiría el antibiótico en cuantía subletal ligado a los ribosomas, alterando de este modo la adquisición de una actividad proteosintética normal.*

(b).*PERSISTENCIA DEL FARMACO EN EL LUGAR DE ACCION. El PAE expresaría el tiempo que precisaría la organela diana de liberarse de la acción inhibitoria del antibiótico.*

Ambos mecanismos pueden realmente ser responsables del PAE según el antibiótico implicado^{(103) (104)}:

-En los AG el PAE probablemente representa un verdadero daño subletal, pues queda ligado a los ribosomas de modo irreversible, con lo que daña la proteosíntesis bacteriana de modo definitivo.

-En otros inhibidores de la síntesis proteica (macrólidos, tetraciclinas, cloramfenicol), que sólo se unen de modo reversible con los ribosomas, el PAE probablemente represente el tiempo que persiste el fármaco ligado a ellos antes de difundir al citosol.

-En las penicilinas el PAE presente frente a los CG(+) viene a representar el tiempo que aparece ligado a la PBP (penicillin-binding protein); su unión laxa y breve explicaría su escaso PAE.

-Las quinolonas actúan ligándose de modo irreversible a la DNA-girasa, por lo que el PAE expresaría probablemente el daño subletal de cantidades mínimas de fármaco.

Recientemente Gottfredson y col.⁽¹⁰⁵⁾ han encontrado alteraciones ultraestructurales durante la fase PAE, que se correlacionan con la duración del PAE, y que consisten en la presencia de agregados electrodensos intracelulares de AG en el interior bacteriano -en concreto de tobramicina en el citosol de *P.aeruginosa*.

2. CARACTERÍSTICAS DEL PAE:

El estudio del PAE se ha realizado sobre todo *in vitro*, pues resulta menos complejo que *in vivo*. Sin embargo se ha podido comprobar la existencia de un estrecho paralelismo entre los resultados obtenidos entre ambos métodos, con sólo dos excepciones^{(106) (107)}:

-Algunos autores no han podido demostrar PAE *in vivo* de la penicilina frente *St.pneumoniae*⁽¹⁰³⁾.

-El PAE de los AG es superior *in vivo* que *in vitro*⁽¹⁰⁸⁾, probablemente en relación con el denominado fenómeno PALE, incremento del PAE en presencia de neutrófilos.

Los métodos de determinación *in vitro* del PAE^{(103) (104) (108) (109)} suponen varios pasos: (a) exposición del germen al antimicrobiano durante al menos dos horas a 37°C en agitación continua, (b) eliminación del antibiótico mediante alguna de las siguientes técnicas como lavados sucesivos, filtración a través de membranas porosas, unión a resinas de intercambio iónico, o a través de la más usada "dilución" del inóculo

estandarizado de 10^6 CFU/ml con un volumen lo bastante grande de cultivo que deje tan mínima concentración de fármaco que no afecte al crecimiento bacteriano - habitualmente diluciones de 10^{-2} para concentraciones próximas a la MIC- y (c) cuantificación del PAE mediante métodos ópticos, eléctricos, bioquímicos -incorporación de timidina tritiada o medición de ATP intrabacteriano- o de viabilidad bacteriana realizando recuentos periódicos del número de colonias bacterianas en cinéticas de crecimiento, que es el método más utilizado.

El valor del PAE entre los distintos métodos de eliminación de antimicrobiano es similar^{(104) (108)}. El cálculo del PAE se realiza mediante la siguiente fórmula⁽¹⁰²⁾:

$$PAE = T - C$$

siendo T y C los tiempos respectivos requeridos para que el número de cfu en el cultivo tratado y en el cultivo control no tratado aumente $1 \log_{10}$ respecto a la cfu contabilizadas inmediatamente después de la eliminación del fármaco.

Las características del PAE son las siguientes:

(1).ES CONCENTRACION DEPENDIENTE^{(101) (106) (108)}. Cuando se obtienen concentraciones superiores o iguales a la MIC, el PAE se incrementa a medida que lo hace aquella. El máximo aumento del PAE se consigue a concentraciones de 8-16 veces la MIC, excepto con la combinación amoxicilina/clavulánico frente BG(-) y rifampicina frente *Staf. aureus* en que ese dintel se sitúa respectivamente en 32 y 200 veces la MIC. Por contra tanto los AG como las quinolonas, merced a su rápido y completo efecto

bactericida, no pueden ensayarse a concentraciones altas, pues a valores superiores a 4 veces la MIC no se puede determinar PAE⁽¹¹⁰⁾.

(2).DEPENDE DE LA DURACION DE LA EXPOSICION^{(101) (102) (103) (109)}. Cuanta más prolongada es la exposición al antibacteriano, mayor duración del PAE se obtendrá. Y así merced a la combinación de las dos primeras características se observa que la duración del PAE en los antibióticos con fuerte acción bactericida (AG, quinolonas) depende del AUC, equivalente de la dosis total.

(3).PUEDE DESARROLLARSE TOLERANCIA DEL PAE con exposiciones repetidas al mismo antimicrobiano⁽¹¹¹⁾. Karlowsky⁽¹¹²⁾ ha comprobado que tal tolerancia es menor en los regimenes de AG que simulan monodosis que en los fraccionados

(4).EFECTO INOCULO presenta en los distintos estudios conclusiones dispares; mientras algunos autores⁽¹⁰⁸⁾ han comprobado disminución de la duración del PAE con el aumento del inóculo, otros⁽¹¹³⁾ no han observado diferencias significativas con variaciones del inóculo en el rango de 10^4 a 10^7 CFU/ml.

(5).LA FASE DE CRECIMIENTO BACTERIANO, logarítmica o no, aún está en discusión si influye sobre la duración del PAE⁽¹¹⁴⁾.

(6).LAS CONDICIONES DEL ENTORNO Y DEL MEDIO DE CULTIVO pueden modificar la duración del PAE:

-La presencia de bacterias "secuestradas", como las presentes en las vegetaciones de endocarditis y rodeadas de glucocálix, impiden la existencia de un PAE efectivo⁽¹¹⁵⁾.

-Se ha reconocido recientemente que la Proteína Microbicida de los gránulos alfa plaquetarios ejerce una acción bactericida y potenciadora del efecto PAE⁽¹¹⁶⁾.

-El pH ácido inferior a 5.5 disminuye de modo importante la duración del PAE de aminoglucósidos y fluorquinolonas, mientras que betalactámicos y tetraciclinas se afectan menos por ello⁽¹¹⁰⁾.

-La hiperoxia prolonga el PAE inhibiendo la síntesis protéica⁽¹¹⁷⁾.

-Los datos sobre la influencia de las concentraciones de cationes divalente -calcio y magnesio- aún son ambigüos⁽¹¹⁸⁾.

-En los caldos de cultivo no influye en la duración del PAE ni el tipo de medio, ni las condiciones de agitación ni la presencia de suero humano sobreañadido⁽¹¹⁸⁾.

(7).EL TIPO DE MICROORGANISMO Y ANTIBACTERIANO son obviamente los factores determinantes de la presencia y duración del PAE⁽¹⁰⁸⁾ ⁽¹⁰⁹⁾. Todos los antimicrobianos activos frente a CG(+) inducen PAE, a excepción de las penicilinas clásicas y aminopenicilinas frente a *Streptococo sp.* y *Staf. aureus*. La duración del PAE del resto de betalactámicos incluidos cefalosporinas oscila entre 1 y 2 horas. Los macrólidos, clindamicina y fluorquinolonas producen PAE de 3 horas, y la vancomicina

y rifampicina de 5 h. Frente al *Staf. aureus* los AG tienen un PAE de 0.3 h en probable relación con su rápida y completa actividad bactericida que reduciría el número de colonias por debajo del umbral de detección.

Frente a los BG(-) los betalactámicos y las sulfamidas carecen de PAE, e incluso puede resultar negativo, excepto las penemas que pueden producir un PAE de 2 horas frente *P.aeruginosa*. Los AG inducen PAE que oscilan entre 1.5 y 7 horas, dependiendo del germen⁽¹¹⁹⁾. Las fluoroquinolonas y rifampicina elevan el PAE a valores superiores a 4 horas.

Frente al *Bacteroides fragilis* los betalactámicos no presentan PAE, mientras para la clindamicina y metronidazol es de 3-5 h. y 6-7 h. respectivamente.

Las hidracidas presentan un PAE muy prolongado frente a la *M.tuberculosis*, de 2 días, lo que es de utilidad clínica en el uso de tratamiento tuberculostáticos a días alternos en pacientes poco colaboradores.

Tanto los macrólidos, como tetraciclinas y quinolonas ofrecen PAE muy prolongados, de 5 a 56 h, frente *M.pneumoniae*.

Tanto la amfotericina-B como el 5-fluorouracilo presentan PAE significativos frente a la *Candida albicans*, pero no así los imidazoles.

Se ha comprobado también que algunas combinaciones antimicrobianas contienen efecto sinérgico sobre el PAE:

-La combinación de penicilinas, penemas o vancomicina con aminoglucósidos incrementan sinérgicamente la duración del PAE sobre CG(+), y especialmente enterococos⁽¹²⁰⁾.

-La combinación amoxicilina/clavulánico tiene efectos sinérgicos sobre Staf.aureus y E.Coli.

-La combinación de amikacina y penemas frente a P.aeruginosa induce un efecto PAE sinérgico⁽¹²¹⁾.

Cuando existe asociación bacteriana, como en las infecciones polimicrobianas, el PAE parece corresponder al de la cepa menos sensible.

En la tabla representada al final de este capítulo se ofrecen valores más concretos sobre el valor del PAE para cada combinación germen-antibiótico.

(8).EL PAE SE INTENSIFICA CON LA PRESENCIA DE NEUTROFILOS. Es el denominado PALE ("Postantibiotic Leukocyte enhancement").

Se ha demostrado que los microorganismos en fase PAE son más sensibles a la actividad antibacteriana de los leucocitos^{(102) (106) (122)}. Se ha comprobado que los leucocitos fagocitan más rápidamente y en mayor cantidad a las bacterias en fase PAE que a bacterias controles.

La magnitud de tal fenómeno depende fundamentalmente de la combinación microorganismo-antimicrobiano⁽¹²³⁾: (a) frente a BG(-) el PALE es mayor con los inhibidores de síntesis protéica -AG y fluoroquinolonas- que con betalactámicos, y (b) frente a St.pneumoniae los macrólidos inducen PALE, pero no así los betalactámicos o quinolonas.

El mecanismo del PAF no es preciso, pero se barajan dos hipótesis⁽¹²⁴⁾:

-Cambios estructurales en la membrana celular bacteriana que disminuyen la resistencia a la fagocitosis. Así se han comprobado mutaciones que conllevan defectos en la estructura de los liposacáridos.

-Incremento de la actividad bactericida superóxido-dependiente mediada por la mieloperoxidasa. Se ha comprobado que la fenilbutazona -inhibidor del metabolismo oxidativo- y la citocalasina B -inhibidor de la translocación de los gránulos que contienen la peroxidasa a los fagosomas de los neutrófilos humanos- disminuyen el PAF.

DURACION MAXIMA DEL EFECTO POSTANTIBIOTICO

<u>Antibiótico</u>	<u>Staf.aureus</u>	<u>Streptococo sp.</u>	<u>H.Influenzae</u>	<u>Enterobacterias</u>	<u>P.aeruginosa</u>
Penicilinas	+ ó ++	++	0 ó +	0 ó +	0
Cefalosporinas	++	++	n.r.	0 ó +	0
Imipenem	++	n.r.	n.r.	0	0 ó +
Vancomicina	+++ ó ++++	++	n.r.	n.r.	n.r.
Eritromicina	++++	++++	++	n.r.	n.r.
Cloramfenicol	+++	n.r.	n.r.	+++	n.r.
Tetraciclinas	+++	+++	n.r.	++++	n.r.
Trimetroprime	+++	n.r.	n.r.	+	n.r.
Aminoglucósidos	+	n.r.	n.r.	++ ó +++	++ ó +++
Quinolonas	++	n.r.	n.r.	+++	+++
Rifampicina	++++	n.r.	n.r.	++++	++++
Clindamicina	++++	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.

0 = <30 min.; + = 30 a 90 min.; ++ = 90 a 150 min.; +++ = 150 a 240 min.; ++++ = >4 h.

Streptococo sp. incluye *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes* y *Str. faecalis*.

Enterobacterias incluye *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*.

Extraído de Vogelmann (103) (106), Gudmundsson (125) y Rodman (126).

EFEECTO
SUB-MIC DE LOS
AMINOGLUCOSIDOS

EFEECTO SUB-MIC

Los efectos que tiene la presencia de concentraciones por debajo de la MIC son bien conocidos sobre la generación de cepas resistentes, la aparición de la resistencia adaptiva y la disminución del PAE. Lorian ⁽¹²⁷⁾ demostró que concentraciones antimicrobianas sub-MIC pueden afectar morfológica y cuantitativamente a las colonias de bacterias. El mecanismo de ello y las consecuencias que se derivan no se han reconocido, y ni siquiera se conoce la relación que pueda mantener con los otros fenómenos descritos: aparición de nuevas cepas con distinta sensibilidad y morfología, inducción de resistencia adaptiva, etc.

A partir de ello se definió la "Concentración antibiótica mínima" (MAC) como la menor concentración de antimicrobiano que induce cambios detectables a nivel morfológico o estructural. La "MAC Inhibitoria" es la menor concentración de antibiótico que produce un 90% de reducción -o de $1 \log_{10}$ - en el crecimiento de un organismo a las 5.5 horas, comparada con un grupo control. Este parámetro no ha sido estudiado en todos los antibióticos, aunque resulta específico para cada uno: así la MAC inhibitoria para los AG oscila sobre 0.5 veces la MIC, mientras para las penicilinas se acerca más al valor de la MIC.

Por todo ello el ratio MIC/MAC de los AG es superior que el de los betalactámicos, tanto para CG(+) como BG(-). Así mismo se han encontrado ratios muy altos con algunos agentes bacteriostáticos, como las tetraciclinas y cloramfenicol.

La aplicación clínica de estos hallazgos aún está por estudiar.

***RESISTENCIA
ADAPTIVA DE LOS
AMINOGLUCOSIDOS***

RESISTENCIA FRENTE AG:

La resistencia frente AG implica una serie de mecanismos diversos que se enumeran a continuación, aunque el que resulta de interés para la modificación de los regímenes de administración es la Resistencia Adaptiva. Siguiendo la clasificación de Daikos⁽¹²⁸⁾:

(1).RESISTENCIA ESTABLE:

-Mutación de LPS Bacteriano o de proteínas ribosomales -fundamentalmente de la unidad 30S para el grupo de la deoxiestreptamina- que disminuye el paso transmembranoso de AG⁽⁷⁹⁾.

-Mutación en el sistema de la cadena respiratoria: de la síntesis del grupo heme, de la menaquiiona, de citocromos o de la ATPasa⁽⁷⁶⁾.

-Síntesis de enzimas inactivadoras del AG⁽¹²⁹⁾. En concreto para la inactivación de la GN las bacterias producen Acetiltransferasas, Nucleotidiltransferasas, y en menor medida Fosfotransferasas.

-Reducción del gradiente electroquímico a través de la membrana⁽¹³⁰⁾, con lo que se impermeabiliza la membrana celular bacteriana al fármaco⁽⁷⁶⁾.

(2).RESISTENCIA FUNCIONAL O INESTABLE:

-Anaerobiosis. Se altera el metabolismo oxidativo y captación subsiguiente de AG⁽⁷⁶⁾.

-Acidosis. La resistencia se incrementa 100 veces cuando el pH desciende de 8.5 a 5.5. Tal es lo que ocurre cuando existe un exudado purulento, donde los AG presentan menor capacidad de penetración y menor eficacia⁽⁷⁶⁾.

-Presencia de betáinas en orina⁽¹³¹⁾.

-Altas concentraciones iónicas.

(3)RESISTENCIA ADAPTIVA. *Es un tipo de resistencia inestable.*

RESISTENCIA ADAPTIVA:

La Resistencia Adaptiva o "Infrarregulación postexposición de la captación de AG" tiene importancia primordial en el régimen de administración de estos antibióticos. Este fenómeno sugiere la existencia de un efecto deletéreo de los niveles persistentemente elevados de AG, e incluso perjudicial de concentraciones subinhibitorias prolongadas⁽¹²⁸⁾.

Este hecho constituye un espaldarazo importante para el uso de intervalos de dosificación prolongados, pues el modo de superar la resistencia es permitir que parte del intervalo quede libre de AG, y no incrementando la dosis subsiguiente⁽¹²⁸⁾.

En la práctica clínica la resistencia adaptiva ha sido superada y enmascarada por la terapia antibiótica combinada^{(128) (132)}; pero el pago al desconocimiento de esta refractoriedad transitoria de la bacteria a los AG puede haber sido un incremento de la toxicidad inducida por el mantenimiento de niveles prolongadamente elevados de antibiótico, así como la aparición de bacteriemias de brecha en endocarditis y fracasos terapéuticos en neutropénicos

1.MECANISMO DE LA RESISTENCIA ADAPTIVA:

La Resistencia Adaptiva se caracteriza por una infrarregulación temporal de la captación de antibiótico durante el período EDP-II del modelo de autopromoción de AG en la bacteria ⁽¹²⁸⁾. La causa de tal fenómeno es desconocida, aunque se barajan las siguientes hipótesis ⁽¹³³⁾:

-Liposacáridos de membrana alteran su estructura durante la fase EDP-II, disminuyendo su capacidad de facilitar la entrada de AG.

-Depleción de la proteína de transporte, aunque ésta no ha sido identificada.

-Colapso del potencial eléctrico, que sirve de promotor para la captación autopromocionada de AG.

2.CARACTERISTICAS DE LA RESISTENCIA ADAPTIVA:

Los modelos de estudio de la Resistencia Adaptiva utilizan el método de dilución para eliminar el antibiótico de la primera dosis del medio de cultivo; tras ello miden la tasa bactericida tras administraciones consecutivas de AG. En estos modelos se observan los siguientes períodos ^{(126) (134)}:

(1).PERIODO ADAPTIVO. Es aquel que tarda en aparecer el fenómeno de resistencia adaptiva, cuya duración para la GN y netilmicina oscila entre 60 minutos para Enterobacterias y 2 horas para P.aeruginosa en modelos in vitro, aunque puede alcanzar 4 horas en modelos experimentales de ratón con absceso subcutáneo.

(2).PERIODO DE RESISTENCIA ADAPTIVA, que oscila de 3-4 h. para la GN frente P.aeruginosa, y de 2-4 h. para las otras Enterobacterias in vitro -en ratón

con infección subcutánea por *Pseudomona dura* 3-4 horas.

(3).PERIODO DE RECUPERACION DE SENSIBILIDAD INICIAL AL AG.

Tarda en alcanzarse aproximadamente 6 horas para MIC habituales en clinica. Sin embargo el periodo concreto en humanos y animales dependería del estado inmunológico del individuo.

Las características de la Resistencia Adaptiva son las siguientes^{(128) (134)}:

(a).ES UN FENOMENO DISTINTO A LA SELECCION DE MUTANTES. No presenta las características paradigmáticas en el laboratorio para la aparición de éstas:

<u>Parámetro</u>	<u>Resistencia por Mutantes</u>	<u>Resistencia Adaptiva</u>
Efecto de distintas concentraciones sobre resistencia/ tasa de muerte	Concentraciones distintas (sub-MIC y múltiplos de MIC) inducen distinta resistencia/ tasa de muerte, y a tiempos distintos	Concentraciones distintas producen idéntica resistencia/ tasa de muerte
Aparición de resistencia	Inmediata	Requiere un tiempo adaptivo.
Relación con antibiótico en caldo	Requiere antibiótico en caldo para el desarrollo de mutantes	No requiere la presencia de antibiótico para el desarrollo de la resistencia
Tasa de crecimiento en el periodo refractario	Diferente velocidad de crecimiento de las nuevas cepas en relación con la progenitora	Idéntica velocidad de crecimiento que en cultivos control
Morfología de colonias en periodo refractario	Distinta morfología	Similar morfología
Reversibilidad de la infra-regulación en la captación de AG	No es reversible, pues las cepas mutantes presentan resistencia estable	Si es reversible al alcanzar el tercer periodo anteriormente descrito

(b).ES UN FENOMENO DISTINTO AL PAE. Las características discriminantes más prominentes son⁽¹²⁸⁾:

<u>Parámetro</u>	<u>Efecto Postantibiótico</u>	<u>Resistencia Adaptiva</u>
Período de máxima resistencia	Máxima resistencia inmediatamente después de eliminar el AG del caldo	Máxima tras pasar el periodo adaptivo
Tiempo de duración	Es mayor que el periodo de resistencia adaptiva	Es menor que la duración del PAE
Periodo de ocurrencia	En fase de inhibición del crecimiento bacteriano	En fase de crecimiento bacteriano
Efecto de dosis repetidas	Disminuye la duración del PAE	Incrementa la Resistencia Adaptiva
Efecto de leucocitos	Influye mediante el fenómeno PALE	La cinética de la resistencia adaptiva es similar en neutropénicos que en no neutropénicos

(c).NO DEPENDE DE LA CONCENTRACION DE AG. Se induce resistencia adaptiva tanto a concentraciones sub-MIC como con concentraciones de 4-8 MIC⁽¹³⁴⁾.

(d).REQUIERE UN PERIODO ADAPTIVO para su aparición, que suele ser de 1-2 horas.

(e).ES UN FENOMENO REVERSIBLE, a diferencia de otras Resistencias por Impermeabilidad, pues presenta un ciclo rápido de autorregulación en la inducción y reversión; sin el efecto sostenedor tras la inducción la resistencia es inestable; en la presencia continuada de AG la resistencia se estimula y prolonga.

(f).NO ES ESPECIFICO PARA CADA AG. Existe resistencia adaptiva cruzada entre los distintos AG.

***BASES
FARMACOLOGICAS
DE LA MONODOSIS DE
AMINOGLUCOSIDOS***

BASES FARMACOLOGICAS PARA USO DE MONODOSIS

La utilización de monodosis se basa en datos farmacocinéticos y dinámicos de los AG derivados de los fenómenos descritos previamente.

(1). CAPTACION SATURABLE DE AG. *El receptor de los AG en las CTP es saturable y con baja afinidad, tanto en la "membrana en cepillo" como en la porción basolateral^{(12) (13) (14) (15) (21)}.*

Solamente el 5% de la dosis total administrada en los regímenes fraccionados y convencionales de AG es captada por las CTP^{(4) (5) (6)}, excretándose el resto por orina. De este modo la monodosis (MD) con intervalos prolongados de dosificación, aunque se administren dosis unitarias mayores no incrementan de modo significativo la captación. Y esto se ha comprobado a nivel experimental, cuando utilizando concentraciones de GN que oscilan entre 10 y 50 µg/ml, equivalentes a lo que ocurre en humanos, no ha habido modificación significativa de su captación^{(15) (29)}. Otros múltiples autores -Josepovitch y col⁽⁶⁵⁾, Sastrasinh y col⁽¹³⁷⁾, Tulkens y col⁽¹²⁾, Verpooten y col^{(135) (136)}, Giuliano y col⁽⁶²⁾- han mostrado incluso que la captación renal de AG en dosis fraccionadas está aumentada en relación con la MD.

De estas dos características se deduce que probablemente el parámetro que se correlaciona más con la captación tubular de AG es el "tiempo de contacto" entre el AG y el receptor. Sin embargo de momento su cuantificación queda alejada de la valoración clínica y experimental. Aunque no ha sido contrastado, algunos autores refieren que la duración del contacto probablemente sea inferior en MD que en triple dosis (TD) de AG^{(59) (61)}.

De todo ello se derivan las siguientes consecuencias:

-Menor inhibición de Fosfolipasas lisosomales y de membrana celular por el AG captado, que según Tulkens⁽¹²⁾ ⁽⁴²⁾ sigue una cinética sigmoidea, de tal modo que incrementos unitarios de dosis -propios de la MD- no incrementarían los metabolitos intermediarios α - y β -lisofosfatidilcolina más que la TD. De este modo la inestabilidad de la membrana lisosomal sería menor, apareciendo menores cuerpos mieloides, con la MD. Esto se ha comprobado tanto para GN como netilmicina⁽²⁷⁾ ⁽²¹⁾.

-Se supone que la menor captación tubular de AG induciría menor inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial y de la integración en ribosomas. Sin embargo ésto queda por demostrar aún.

Se ha demostrado finalmente que el régimen de administración de AG afecta su acúmulo cortical. En ratas Aronoff y col⁽⁵⁹⁾. han demostrado un mayor depósito de GN con TD que en MD, a isodosis y equivalente a humanos. Esto ha sido confirmado por Bennet y col⁽¹³⁸⁾. en el mismo modelo con el mismo AG, siendo sus resultados:

<u>Regimen de dosificación</u>	<u>Acúmulo cortical (μg de GN/ gr.tejido cortical)</u>
Monodosis	496 +/- 64
Dosis fraccionada en dos	645 +/- 36
Dosis fraccionada en tres	1105 +/- 65

DeBroe y col.⁽²⁷⁾ han demostrado en pacientes con hipernefroma que recibieron AG en distintos regimenes de dosificación previo a la nefrectomía diferente acúmulo cortical dependiendo del modo administración - infusión continua versus intermitente. Los resultados se ofrecen en la siguiente tabla:

<u>Acúmulo cortical de AG (% respecto dosis administrada)</u>			
<u>Aminoglucósido</u>	<u>En infusión continua</u>	<u>En dosis fraccionada</u>	<u>Ratio contin/fraccion</u>
Netilmicina	12.1%	3.9%	3.1
Gentamicina	10.5%	2.7%	3.8
Tobramicina	7.4%	3.1%	2.3
Amikacina	3.2%	2.2%	1.3

Y así, aunque se ha demostrado que el régimen de administración de los AG influyen sobre su captación y acúmulo cortical, queda por repetir la experiencia previa en humanos comparando MD frente dosis fraccionada.

(2).ACTIVIDAD BACTERICIDA CONCENTRACION-DEPENDIENTE.

Tal y como se ha demostrado en modelos experimentales y animales la tasa bactericida depende de ⁽⁶⁸⁾: (a) AUC -equivalente de dosis total- y de (b) la concentración sérica pico de AG ⁽⁷⁵⁾ ⁽⁹³⁾ -y como variante el ratio pico de AG/MIC ⁽⁹⁴⁾- como expresión de los niveles tisulares de fármaco. Bastone ⁽⁸¹⁾ en un inteligente experimento en el que modificaba el pico máximo de AG -y el ratio pico AG/MIC- sin variar el AUC demostró que ambos parámetros afectan de modo independiente la eficacia bactericida. Y ello resulta importante porque si como pretendía Vogelman ⁽⁸⁾ previamente la concentración pico de AG expresaba la AUC, la única modificación que alteraría la actividad bactericida sería cambios en la dosis total, mientras que al tomarse en consideración los resultados de Bastone se pueden utilizar regímenes que maximicen el pico de AG, tal y como la MD. Además los regímenes fraccionados convencionales y la MD no son diferentes en su AUC a isodosis.

De este modo se constata de modo teórico la superioridad de la MD sobre la

TD de GN en la eficacia bactericida. Blaser y col. (71) y Gerber y col. (72) demostraron en modelos in vitro que los regimenes que emulaban MD presentaban una mayor y más rápida tasa de letalidad que aquellos que asemejaban TD. Estos datos se han confirmado posteriormente en clinica humana utilizando la CBS (Capacidad Bactericida Sérica) como marcador de actividad bactericida de la netilmicina por parte de Van de Auwera y col (102). Sus conclusiones fueron las siguientes: (a) la CBS era superior para MD que para TD el primer día de tratamiento para todas las cepas de BG(-) testadas, exceptuando P. aeruginosa, (b) la CBS no obstante se igualaba durante el quinto día de terapia, (c) el porcentaje de pacientes con CBS >8, considerada como óptima para un tratamiento correcto, era superior para la MD que para TD, manteniéndose incluso durante el quinto día para algunas cepas.

<u>Organismo</u>	<u>Dia 1</u>		<u>Dia 5</u>		
	<u>CBS media</u>	<u>% con CBS>8</u>	<u>CBS media</u>	<u>% con CBS>8</u>	
<u>MD</u>	<i>E.cloacae</i>	32	96	16	100
	<i>K.pneumoniae</i>	32	96	32	100
	<i>S.marcescens</i>	8	64	8	68
	<i>E.Coli</i>	16	88	16	96
	<i>P.aeruginosa</i>	<2	8	<2	4
<u>TD</u>	<i>E.cloacae</i>	8	60	16	100
	<i>K.pneumoniae</i>	8	85	32	100
	<i>S.marcescens</i>	2	25	4	40
	<i>E.Coli</i>	4	35	16	60
	<i>P-aeruginosa</i>	<2	0	<2	0

Este mismo autor comprobó que: (a) las curvas de letalidad pueden ser distintas para algunas Enterobacterias según se utilice MD o TD -mientras aparecían idénticas para E.Coli, K.pneumoniae y Enterobacter sp. era claramente superior la MD frente S.marcescens y P.aeruginosa- y (b) la tasa de recrecimiento posterior era diferente entre ambos regímenes de administración -en concreto para la S.marcescens en que no existía para la MD.

El mecanismo en que se asienta la mayor actividad bactericida de la MD consiste en: (a) la Adherencia Iónica de los AG a los Fosfolípidos no es saturable y es concentración dependiente⁽⁷⁴⁾, por lo que a mayor dosis administrada mayor unión del fármaco al LPS, con lo que más rápido y eficazmente se desencadena el modelo de autopromoción, (b) la fase EDP-II también está intimamente relacionada con la concentración de AG ya que se ha creado un mayor gradiente electroquímico y se capta más antibiótico⁽⁷⁵⁾. De este modo se alcanzan más rápidamente concentraciones letales intracelulares del AG. Incluso merced a su comportamiento farmacodinámico puede esterilizar el caldo o el foco infeccioso, sin recrecimiento posterior.

Incluso utilizando regímenes que emulan MD, con distintas concentraciones del mismo AG, la tasa bactericida no es lineal, sino exponencial^{(70) (106)}:

<u>Dosis de Tobramicina</u>	<u>Descenso de CFU (log CFU)</u>
4 mg/kg	0.3
8 mg/kg	0.9
12 mg/kg	1.7
20 mg/kg	2.6

Esto expresa que incluso en MD, las dosis más altas presentan una mayor actividad bactericida.

Por último se sabe actualmente, mediante estudios en animales, que a nivel tisular -concretamente en secreciones bronquiales- la MD produce picos más precoces y superiores que la TD de AG⁽⁸⁸⁾.

(3).EFECTO POSTANTIBIOTICO. Permite la prolongación del intervalo de dosificación más allá del tiempo que permanecen los niveles séricos de AG por encima de la MIC, manteniendo idéntica eficacia si no se supera el periodo de tiempo supra-MIC más el del PAE. De este modo se han podido utilizar para AG regímenes de MD.

El PAE es dependiente de la concentración^{(101) (106) (108) (139)}, por lo que se obtiene un mayor PAE con la MD que con TD. El máximo PAE para los AG se obtiene cuando se alcanzan concentraciones 4 veces la MIC, pues merced a su potente y rápido efecto bactericida no se puede objetivar tal fenómeno por encima de tales concentraciones⁽¹¹⁰⁾. Dentro de la MD se obtiene mayor PAE cuanto mayor es la concentración ensayada de AG⁽⁸⁵⁾.

Los AG además son capaces de presentar efecto sinérgico sobre la duración del PAE cuando se asocian a penicilinas, penemas y vancomicina en el tratamiento de infecciones por CG(+), incrementandolo en 1-3.3 h⁽¹²⁰⁾. Esto tendría aplicación permitiendo utilizar MD en la terapia combinada frente a estos gérmenes. Gudmundsson⁽¹²⁵⁾ también ha comprobado efecto sinérgico sobre el PAE de cefalosporinas de tercera generación y amikacina en modelos experimentales de infección por *P.aeruginosa* -absceso subcutáneo de ratón; curiosamente la tobramicina asociada a ceftazidima en este mismo estudio mostraron reducción del

PAE. La aplicación clínica sobre infecciones por *P.aeruginosa* precisa en el momento actual obviamente más estudios. Frente a infecciones por *E.Coli* y *K.pneumoniae* la combinación betalactámicos y AG no ha incrementado la duración del PAE.

Karlowsky y col⁽¹¹²⁾. han demostrado un desarrollo menor de tolerancia del PAE en regímenes que simulan MD frente a los que emulan TD cuando se utiliza GN, tobramicina o amikacina tras su administración repetida.

Los AG además se benefician del efecto PAE, lo que plantea que el máximo beneficio de la prolongación de los intervalos de dosificación se encontrarán en pacientes no neutropénicos^{(102) (106) (122) (124)}. Además la sensibilidad a la actividad fagocítica durante esta fase nos permite explicar la prolongación del PAE en vivo respecto a experiencias in vitro.

La duración máxima del PAE para AG se describe a continuación^{(106) (109) (126)}:

<u>Organismo</u>	<u>PAE in vitro</u>	<u>PAE in vivo</u>
<i>Stafilo aureus</i>	0.4 - 4.8 h	2.5 - 3.4 h
<i>Escherichia Coli</i>	1.8 - 6.6 h	1.4 - 2.1 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 - >3.5 h	2.7 - 6.5 h
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2.7 - 6.9 h	2.9 - 7.5 h
<i>Pseudomona cepacia</i>	2.8 - 3.3 h	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	2.2 - 4.5 h	-
<i>Enterobacter faecalis</i>	1.5 - 2.5 h	-

(4).RESISTENCIA ADAPTIVA. Este fenómeno ocurre como consecuencia de la presencia de AG en el medio, incluso en concentraciones subinhibitorias, y por el cual existe una infrarregulación de la captación de AG⁽¹²⁸⁾. Hoy en día se sabe que el modo de superarla es dejando una parte del intervalo de dosificación libre de

antibiótico, lo que constituye un dato a favor del uso de MD⁽¹²⁸⁾; sin embargo el período libre resulta variable entre pacientes, y el tiempo óptimo aparece mal definido. Con este régimen dura más el período adaptivo, y tarda más tiempo en alcanzarse el período de resistencia⁽¹³²⁾.

Recientemente⁽⁷⁹⁾ se ha descubierto un mecanismo que explicaría cómo aparece este fenómeno: la sustitución de la banda A de LPS -con menor afinidad por AG- por la banda B, con lo que existiría mayor competitividad por ocupar los espacios de los cationes divalentes, destruyendo los enlaces LPS-LPS, y disminuyendo así el número de receptores para consecuentes moléculas de AG. Estas mutaciones están generadas por la presión que ejerce niveles persistentes de AG.

La resistencia adaptiva en AG se ha medido mediante el "tiempo que tarda en recuperar su MIC previa" (MRT). Se ha comprobado que es menor con MD que con TD⁽¹⁴⁰⁾.

<u>Régimen</u>	<u>MRT de la Gentamicina</u>	<u>MRT de la Tobramicina</u>
Monodosis	36.1 +/- 3 h.	34.5 +/- 3 h.
Triple dosis	68.1 +/- 5 h.	77.8 +/- 8 h.

Se ha comprobado también que el MRT se correlaciona con el tiempo que tarda en caer la concentración sérica por debajo de la MIC, siendo éste menor en regímenes de MD que en TD, con lo que la presión a la que se ve sometido el germen para que desarrolle resistencia adaptiva es menor⁽¹⁴⁰⁾.

<u>Régimen</u>	<u>Tiempo que tarda en alcanzar niveles por debajo de la MIC</u>	
	<u>Gentamicina</u>	<u>Tobramicina</u>
Monodosis	15.1 +/- 3.2 h	<8 h
Triple dosis	60.1 +/- 7.1 h	32.4 +/- 3.3 h

Se ha demostrado también que el cociente Pico de AG/MIC disminuye conforme se expone de modo repetido al AG, y que esta disminución es mayor para la TD que la MD; la razón de esta disminución es el incremento de la MIC. Así frente a *E.Coli* con dosis convencionales de administración se ha comprobado tal variación en este parámetro⁽¹⁴⁰⁾:

<u>Aminoglucósido</u>	<u>Régimen</u>	<u>Ratio Pico AG/MIC</u>		
		<u>1ª exposición</u>	<u>2ª exposición</u>	<u>3ª exposición</u>
Gentamicina	MD	7.5 +/- 1.1	2.1 +/- 0.3	1.9 +/- 0.4
	TD	2.5 +/- 0.4	0.4 +/- 0.3	0.2 +/- 0.3
	Ratio MD/TD	3	5	10
Tobramicina	MD.	26.7 +/- 2.8	8.1 +/- 1.1	6.2 +/- 0.5
	TD	8.9 +/- 1.1	2.7 +/- 0.3	1.1 +/- 0.3
	Ratio MD/TD	3	3.3	6

A pesar de todos estos datos el fenómeno no ha presentado importancia clínica importante hasta ahora, porque su aparición aparecía equilibrada por el uso simultáneo de betalactámicos.

Por último y en relación con las subpoblaciones resistentes mediante un mecanismo estable, Blaser⁽¹⁴¹⁾ reconoció que regímenes que no alcanzan picos altos (para GN <10 µg/ml) se asocian a su aparición.

***ESTUDIOS
EXPERIMENTALES
CON MONODOSIS DE
AMINOGLUCOSIDOS***

Los estudios en modelos animales han precedido a los ensayos clínicos en humanos. Los estudios en ratas ⁽⁸⁶⁾, conejillos de Indias ⁽¹⁴²⁾ y conejos inmunocompetentes ⁽¹⁴³⁾ con neumonía o absceso subcutáneo por *P.aeruginosa* tratados con Amikacina y Tobramicina han mostrado idéntica eficacia y menor nefrotoxicidad de MD frente dosis fraccionada. En ratones neutropénicos con absceso subcutáneo por *P.aeruginosa* Gerber ⁽¹⁴⁴⁾ ha demostrado menor eficacia de la administración horaria que cada 3 h. de GN asociada a azlocilina o ticarcilina. Roosendaal ⁽¹⁴⁵⁾ y Mordenti ⁽¹⁴⁶⁾ en peritonitis y neumonías por *K.pneumoniae* de ratas leucopénicas han mostrado idéntica eficacia entre regímenes que emulaban MD versus TD.

Sin embargo hay que considerar que estas conclusiones sobre intervalos de dosificación están limitadas porque los antibióticos son eliminados más rápidamente en animales que en humanos ⁽¹⁴⁷⁾.

Los estudios experimentales más prominentes se enumeran a continuación:

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Conclusiones</u>	<u>Comentarios</u>
Frame. 1977 (148)	Conejos inmunocompetentes tratados con GN a dosis de 7.5 mg/kg/d cada 8h ó 24h. por >3 semanas	Δ Creatinina fue superior para MD que TD ($p < 0.05$)	Pico de GN no se correlacionó con nefrotoxicidad Vida media de MD fue inferior que la de TD.
Thompson. 1977 (149)	Perros no neutropénicos tratados con GN en MD frente infusión continua	Δ Creatinina de MD fue inferior con MD que con infusión continua	
Bennett. 1979 (67)	Ratas de Fischer tratadas con GN a dosis de 40 mg/kg/día en MD, BID o TD	Δ Creatinina de TD fue superior que BID, y a su vez que MD ($p < 0.001$)	Acúmulo renal de GN en MD es inferior que el de TD 2º día de terapia ($p < 0.001$)

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Conclusiones</u>	<u>Comentarios</u>
Nishi. 1980 (150)	Ratones con neumonia por <i>P.aeruginosa</i> tratada con Kanamicina (40 mg/kg dia) bien en MD o BID	No estudia nefrotoxicidad Eficacia de BID superior que MD	Estudio no randomizado
Powell. 1983 (142)	Cerdos de Guinea y Ratas con neumonia por <i>P.aeruginosa</i> tratados con Tobramicina a dosis de 40 mg/kg/d bien en MD o Infusión continua. Conejos con endocarditis por <i>P.aeruginosa</i> tratados con Tobramicina en MD o infusión continua	Presenta mayor eficacia la MD que la infusión continua en la neumonia Presenta idéntica eficacia la MD que la infusión continua en la endocarditis La disminución del FG es menor con dosis fraccionada que infusión continua	Describe el PAE en BG(-) El acúmulo renal de AG a los 20 días es < 20% del total Correlaciona nefrotoxicidad con el valle sérico de AG.
Gerber. 1983 (72)	Ratón neutropénico con absceso por <i>P.aeruginosa</i> tratado con netilmicina y betalactámico	Eficacia mayor de dosis que utilicen intervalos cortos frente a los largos	Limitación de eficacia condicionada por intervalos nunca superiores al del tiempo supra-MIC y PAE
Wood. 1988 (86)	Ratas de Fischer con infección de pared abdominal tratados con Tobramicina con 60 mg/kg/d cada 4, 8, 12 y 24 h.	El régimen de administración con intervalo más breve es más nefrotóxico Eficacia similar.	
Kapusnik. 1988 (85)	Cerdos de Guinea neutropénicos y no inmunodeprimidos con neumonia por <i>P.aeruginosa</i> tratados con Mezlocilina y Tobramicina (30 mg/kg/d) fraccionado cada 4 o 24 h	Eficacia similar entre ambos regímenes en no neutropénicos. Eficacia superior de dosis fraccionadas en neutropénicos	Demuestra que el PAE es mayor con las dosis más altas
Gerber. 1989 (144)	Ratas neutropénicas con absceso subcutáneo por <i>P.aeruginosa</i> tratadas con Azlocilina y Netilmicina (dosis adaptadas para mimetizar niveles séricos humanos de MD y TD)	MD es más bactericida que TD, y más rápido, dejando menos cepas residuales al finalizar el tratamiento.	Eficacia se correlaciona con ratio Pico/MIC

<i>Leggett. 1989 (151)</i>	<i>Ratones neutropénicos con infección pulmonar o absceso subcutáneo por <i>K.pneumoniae</i></i>	<i>El régimen de administración no es factor determinante de eficacia, siempre que no se supere el tiempo supra-MIC y PAE</i>	<i>Muestra que los parámetros que determinan la eficacia son el AUC sobre la MIC y el PAE</i>
<i>Blaser. 1991 (152)</i>	<i>Modelo in vitro de infección por <i>S.marcescens</i> y <i>P.aeruginosa</i> tratados con Amikacina, Netilmicina e Isepamicina</i>	<i>Los regímenes de MD son más bactericidas que los de TD. La MD además inhibe recrecimiento bacteriano, cosa que no ocurre con la TD</i>	<i>Reconoce la necesidad de altos ratios Pico/MIC para evitar que emerjan cepas resistentes.</i>

***ENSAYOS CLINICOS
CON MONODOSIS DE
AMINOGLUCOSIDOS***

Los estudios clínicos con monodosis de aminoglucósidos se han realizado desde los años setenta ⁽¹⁵³⁾ ⁽¹⁵⁴⁾ ⁽¹⁵⁵⁾, pero sólo de modo comparativo con regímenes convencionales de administración desde 1983 ⁽¹⁴²⁾. Se han realizado sobre poblaciones heterogéneas: niños y adultos, pacientes con insuficiencia renal y con función normal, con infecciones del tracto urinario y con infecciones severas por BG (-).

Tal y como dice Rotschafer ⁽⁹⁶⁾ en un reciente revisión del tema: "hasta el momento, con numerosos estudios clínicos realizados en la literatura, no hay datos definitivos que establezcan una eficacia superior de la monodosis frente a métodos de dosificación tradicionales de aminoglucósidos, así como muy limitados que sugieran reducción en la toxicidad".

De la revisión de los trabajos publicados, clasificados cronológicamente en la tabla adjunta, las conclusiones extraídas están de acuerdo con la afirmación anterior, aunque se debe reseñar un dato importante: los únicos estudios que muestran reducción de la toxicidad renal del régimen de mono frente al de triple dosis no han utilizado la creatinina como herramienta de estudio, sino marcadores de función tubular -fosfolipiduria y enzimuria- más sensibles que aquella para detectar nefrotoxicidad inducida por fármacos.

Por ello resulta coherente proseguir realizando ensayos clínicos que comparen distintos regímenes de dosificación, usando marcadores de función tubular, y más aún para el aminoglucósido más utilizado en nuestro país, pero apenas estudiado: la gentamicina.

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Labovitz 1974 (153)	21 pac. con ITU. Excluidos si Crea basal > 1.5 mg/dl	GN: 160 mg/24h. vs. 60-80 mg/8h Pico GN: MD 8.4+/-2.2 vs. TD 4+/-1	No compara los dos regí- menes entre si, sino el Δ Crea dentro de cada ré- gimen (siendo significati- vo para la MD).	Ototox: MD 1/11 vs. TD 0/10 (n.s.) por audiometría. Vestibulotox: 0% en ambos grupos	No encuentra di- ferencias entre MD y TD	Es el primer estudio clínico que uti- liza MD. Correlaciona dosis y pico sérico Encuentra diferente vida media entre MD y TD No calcula error β .
Feld 1977 (154)	Pacientes neutro- pénicos con can- cer	Sisomicina: isodosis en perfusión continua vs. fraccionada	No valorada	No valorada	Infus. continúa 63% vs. fraccio- nada 43% (n.s.)	Estudio que muestra que el modo de administración es importante para los AG. No calcula error β .
Feld 1979 (156)	71 pac. neutro- pénicos con can- cer	Amikacina: 18 mg/kg/24h en dosis fraccionada cada 8 h. o en infusión continua	Es similar en ambos gru- pos: 7%	Similar en ambos grupos 6%	No es diferente entre ambos gru- pos: 83%	Reitera los datos de estudio previo con amikacina. No calcula error β
Powell 1983 (142)	52 pac. con fibro- sis quística con Creatinina basal normal	Tobramicina para obtener nivel sérico de 5.2 mg/l en infusión continua vs. 4 mg/l en MD. Pico MD: 62+/-2 mg/dl vs Inf.continua: 4+/-0.2	No encuentra diferencias en el Δ Crea ni en Aclara- miento de Crea. Sin embar- go no realiza análisis esta- distico	Similar ototoxic. por audiometría Similar vestibulo- toxic. por crite- rios clínicos	No encuentra di- ferencia a partir de una escala par- ticular de severi- dad clínica	No calcula error β Criterios aleatorios de nefrotoxic. Concluye que el valle sérico expresa su aclaramiento renal Valle sérico se correlaciona con oto- toxicidad

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Feld 1984 (157)	Pac. con cancer neutropénicos Excluidos si Crea >2 mg/dl 33 episodios en infus.continua y 45 epis. en TD	Tobramicina+Cefamandol Inf.continua: 7.5 mg/kg/ 24h para alcanzar pico de 4-5 mg/l. TD: 1.9 mg/kg/6h para al- canzar pico de 6-7 mg/l	Inf.continua: 6/40 (15%) vs. TD 2/28 (7%). Criterio de nefrotoxicidad Δ Crea >0.5 mg/dl o Crea máxima >1.5 mg/dl	No diferencia en ototoxicidad (2%)	No encuentran di- ferencia (67%) entre ambos regi- menes, salvo en neutropénicos se- veros (inf.contin. superior a TD)	Evalúan episodios, no pacientes No correlación entre nefrotoxicidad y niveles séricos o Crea basal alta Se desarrolla nefrotoxicidad con do- sis menores en inf.continua que TD Estudio preliminar para calcular tamaño muestral.
Petty 1986 (158)	20 individuos sa- nos	Tobramicina: MD 5.1 mg/ kg/24h vs. TD 1.7 mg/kg/ 8h durante >9 días	No se demuestra	No se demuestra	Obviamente no estudiada	Estudio destinado a la farmacodiná- mica.
Khan 1987 (159)	42 niños con ITU y tracto urinario normal	GN: MD 3 mg/kg/día vs. TD 1 mg/kg/8h	No se estudia	No se estudia	Eficacia: 100% Recurrencia: MD 67% vs. TD 52%	Primer estudio en niños No calcula error β .
Shankar 1987 (160)	200 niños con ITU	GN: 6 mg/kg/24h (100 p.) vs. 3 mg/kg/12h (50 p.) vs 2 mg/kg/8h por 7 días	No se encuentra ningún Δ Crea significativo en ningún grupo	Ninguna diferen- cia entre los gru- pos	Ninguna diferen- cia	No predetermina tamaño
Proctor 1987 (161)	20 individuos sa- nos	Tobramicina en MD 5 mg/ kg/día	No se estudia	Estudia vestibulo toxicidad por ENG: 0%	No se estudia	Estudio sólo vestibular
Hansen 1988 (162)	64 pac. sépticos	Netilmicina+Cefuroxima MD: 300-450 mg/24h TD: 100-150 mg/24h	No diferencias. MD 0/31 vs. TD 2/33	No ototoxicidad	Resulta más efi- caz la MD que TD	No calcula error β

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Maller 1988 (163)	45 ancianos con infecciones severas	Amikacina+Betalactámico MD: 11 y 15 mg/kg/24h vs. BID: 7.5 mg/kg/12h	No es diferente entre los tres regímenes	No diferente en oto o vestibulo toxicidad	No es diferente	Correlación de curación con infección demostrada
Grimwood 1988 (164)	69 niños con ITU	GN en MD 1.5 mg/kg/24h versus antibioticoterapia variable y dependiendo del criterio clínico	No estudiado	No estudiado	Menor supresión de flora perianal y periuretral con mayor tendencia a recurrencia	Estudio descriptivo sin análisis estadístico Comparación de grupos heterogéneos
Pierre 1988 (165)	30 individuos sanos	Netilmicina+Teicoplanina 4.5 mg/kg/24h vs. 6 mg/kg/24h	Netilmicina en MD incrementa la enzimuria	No aparece ototoxicidad	No es diferente la evolución clínica	Estudia dos dosis diferentes de AG No es comparativo de dos regímenes
Fan 1988 (166)	40 pac. con apendicitis perforada	Netilmicina+Metronidazol MD: 4.5 mg/kg/24h vs. TD 1.5 mg/kg/8h	No diferencia: MD 2/20 vs. TD 4/20	No se detecta ototoxicidad	No es diferente la eficacia: 10% en ambos grupos	Carece de error β y potencia estadística
Tulkens 1988 (167)	38 pac. con enfermedad inflamatoria pélvica	Netilmicina+Tinidazol+ Ampicilina. TD: 2.2 mg/kg/8h vs. 6.6 mg/kg/24h	No se detecta nefrotoxicidad	Mayor incidencia de ototoxicidad de TD en audiometría de alta frecuencia	No es diferente entre ambos grupos	Estudio preliminar sin potencia estadística para la nefrotoxicidad
Mauracher 1989	185 pac. con infecciones severas	Netilmicina+Betalactám. MD: 300 mg/24h vs. TD 100 mg/8h	No hay diferente nefrotoxicidad	No estudiado	Idéntica eficacia clínica	

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Sturm 1989 (169)	70 pac. con bacteriemia por BG(-) Excluidos cuando Crea > 240 μmol/l	Netilmicina como monoterapia. MD 6 mg/kg/24h vs TD 2 mg/kg/8h por 5 días	No hay diferente nefrotox. MD 1/35 vs. TD 0/35	No hay ototoxicidad mediante audiometría.	No hay diferente incidencia.	Reconoce que bacteriemia polimicrobiana, shock, leucopenia, enfermedad subyacente y alto ratio MIC influye sobre la eficacia. No calcula error β
Hollen- der 1990 (170)	114 pac. con infecciones intraabdominales	Netilmicina+Metronidazol MD 4.5 mg/kg/24h vs. TD 1.5 mg/kg/8h	No hay ningún episodio de nefrotoxicidad	No hay ototoxicidad valorado por clínica	Eficacia clínica y microbiológica no es diferente	Estudio dirigido al estudio de eficacia, no de nefrotoxicidad. No calcula error β
DeVries 1990 (171)	197 pac. con infección intraabdominal	Netilmicina+Timidazol MD 6 mg/kg/24h vs. TD 2 mg/kg/8h.	No hay diferente nefrotoxicidad. MD 9/98 vs. TD 8/99	Ototoxicidad en 5% por audiometría. Vestibulotoxicidad en 1% por clínica	Similar respuesta clínica y microbiológica	Importante potencia estadística No hay correlación entre valle y nefrotoxicidad. Relación entre ototoxicidad y valle elevado
Nordström 1990 (172)	60 pac. con infecciones severas con Aclaramiento de Crea > 60	Gentamicina o Netilmicina MD 4.5 mg/kg/24h vs. TD 1.5 mg/kg/8h por 7-10 días	La disminución del Aclaramiento de Crea es mayor con TD que con MD	No es diferente la ototoxicidad por audiometría y ENG	No hay diferente eficacia entre MD y TD	Muestra escasa y fragmentada No calcula error β No realiza análisis estadístico
Ter Braak 1990 (173)	300 pac. con infección por BG (-). Excluidos si Crea > 300 μmol/l	Netilmicina+Ceftriaxona TD 1.3 mg/kg/8h vs. MD 3.9 mg/kg/24h	No hay diferente nefrotoxicidad entre MD (15%) y TD (17%). Aparece la nefrotoxicidad con menos dosis en TD	No hay diferente nefrotoxicidad por audiometría	No hay diferente eficacia clínica o microbiológica	No calcula error β Asocia nefrotoxicidad con valle y duración del tratamiento Superinfección del urinario y digestivo más frecuente con TD

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Ibrahim 1990 (174)	78 pac. con enfermedad inflamatoria pélvica	Ampicilina o Tinidazol + Amikacina MD 14 mg/kg/24h o BID 7 mg/kg/12h ó Netilmicina MD 6.6 mg/kg/24h o TD 2.2 mg/kg/8h	Idéntica incidencia en Δ Crea. Mayor fosfolipiduria en dosis fraccionadas	Mayor ototoxicidad en audiometría de alta frecuencia	No es diferente entre los cuatro grupos	No calcula error β Estudio fraccionado
Van der Auwera 1991 (101)	60 pac. con cancer e ITU	Netilmicina: MD 6 mg/kg/24h vs. TD 2 mg/kg/8h	Idéntico Δ Crea entre los grupos. Mayor incidencia de fosfolipiduria en TD	Idéntica tasa de ototoxicidad	Idéntica tasa de cura, recidiva e infección	MD induce menor y más tardía fosfolipiduria No calcular error β
Viscoli 1991 (175)	13 niños sometidos a trasplante de médula ósea	Amikacina + Cefazidima + Amfotericina + Teicoplanina + Ciclosporina MD 20 mg/kg/24h	1/13 desarrolló nefrotoxicidad	1/10 desarrolló ototoxicidad	No valorada	Estudio sin potencia estadística
Kafetzis 1991 (176)	51 niños con infección severa por BG(-)	Amikacina + Betalactám + Vanco 20 mg/kg/24h	Ningún caso de nefrotoxicidad	Ningún caso de ototoxicidad	Idéntica tasa de curación	No calcula error β
Giama-rellou 1991 (177)	60 pac. con infección no graves por BG(-)	Amikacina + Cefaloporina MD 15 mg/kg/24h vs. BID 7.5 mg/kg/12h	No aclara en qué grupo ocurren los cinco casos de nefrotoxicidad	No aclara qué grupo presentó los 2 casos	Cura clínica superior en MD (97%) que en BID (76%)	Cura microbiológica similar
EORTC 1991 (178)	694 pac. con cancer neutropénico Excluidos si Crea > 300 μ mol/l	Amikacina + Ceftriaxona MD 20 mg/kg/24h vs. TD 6.5 mg/kg/8h	No diferente incidencia de nefrotoxicidad. Instauración más tardía en MD	No diferente ototoxicidad por audiometría	No diferente incidencia clínica ni microbiológica	Eficacia no influida por el número de neutrófilos. Enorme potencia del estudio El objetivo es el estudio de eficacia

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Tulkens 1991 (42)	78 pac. con enfermedad inflamatoria intestinal con Crea > 120 $\mu\text{mol/l}$	Ampicilina + Amikacina (MD 14.5 mg/kg/24h o BID 7.2 mg/kg/12h) o Netilmicina (MD 6.6 mg/kg/24h o TD 2.2 mg/kg/8h)	Idéntica nefrotoxicidad según criterio de ΔCrea . Mayor fosfolipiduria de dosis fraccionadas	Menor ototoxicidad de MD por audiometría de alta frecuencia	No hay diferente tasa de cura clínica o de erradicación microbiológica	Fosfolipiduria correlacionado con duración del tratamiento. Es superior con netilmicina que amikacina. Utiliza fosfolipiduria como marcador por su enorme sensibilidad. No calcula error β . No muestra correlación entre ΔCrea y fosfolipiduria. Muestra correlación de fosfolipiduria con enzimuria y BMCi.
Maller 1991 (179)	220 pac. con sospecha de infección por BG(-) con Aclar. Crea < 25 ml/min	Piperacilina o Ampicilina + Amikacina. MD 15 mg/kg/24h vs. 7.5 mg/kg/12h	No hay diferente tasa de nefrotoxicidad (6%). En todos los pacientes asentaba sobre Crea basal anormal	No hay diferente tasa de ototoxicidad	Eficacia clínica y microbiológica no son distintas	Importante potencia aunque no calcula el error β
Marik 1991 (180) (181)	348 pac. con infección por BG (-). Excluye los pacientes que desarrollan insuficiencia renal en primeras 48h	Ampicilina o Cefazidima + Amikacina. Dosis en niños < 1 año 20 mg/kg/24h, y en adultos y niños > 1 año 10 mg/kg/24h. Ajuste según niveles	Idéntica tasa de nefrotoxicidad	No valorado al ser pacientes de UCI	Cura clínica (MD 83% vs. TD 66%) y microbiológica (MD 81% vs. TD 58%) superior para MD, fundamentalmente en niños	Tasa de fallos de BID mayor que en sepsis e infección por <i>P.aeruginosa</i> en BID mayor que en MD. La superioridad en niños es atribuida a que en UCI ingresan por fallo de un sólo órgano, mientras en adultos hay fallo multiorgánico. Estudio no ciego. Muy potente

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Beaucaire 1991 (182)	124 pac. con sospecha de infección por BG(-) con Crea < 1.7 mg/dl	Betalactám. o Quinolonas o Vancomicina + Amikacina a dosis de 15 mg/kg/24h o 10 mg/kg/24h si edad > 80 años	No estudiado	No estudiado	Respuesta clínica en 84% y microbiológica en 67%	Mayor índice de fracaso y muerte si pico de amikacina > 40 mg/l. Estudio farmacocinético. Fracaso asociado a P.aeruginosa o Acinetobacter
Vigano 1992 (183)	144 niños con pielonefritis por BG(-)	Netilmicina. MD 5 mg/kg/24h vs. TD 2 mg/kg/8h	Incidencia de nefrotoxicidad similar en ambos grupos (3%)	No diferencia en estudio por audiometría y BERA	No hay diferencia en la tasa de eficacia (99%)	Objetivo es el estudio de eficacia. Predetermina valor β
Mendes Costa 1992 (184)	325 pac. con cirugía colrrectal	Metronidazol + Amikacina MD 15 mg/kg/24h vs. BID 7.5 mg/kg/12h	MD 5/133. BID 1/128. No consta análisis estadístico	No diferencia en incidencia de ototoxicidad	No hay diferencia	No hay análisis estadístico
IATCG EORTC 1993 (185)	694 pac. niños, ancianos y adultos con cáncer y neutropenia con Crea < 300 μ mol/l	Ceftriaxona + Amikacina MD 20 mg/kg/24h vs. TD 6.5 mg/kg/8h	No diferencias significativas (MD 3% y TD 2%) Δ Crea más tardío y menor con MD	No diferente ototoxicidad (MD en 3/70 y TD en 4/74)	No diferencia en eficacia (MD 71% vs. TD 74%)	Calcula error β y acepta diferencia del 10% para aceptar H_0
Rozdinsky 1993	116 pac. neutropénicos febriles	Betalactám. + Netilmicina MD 6 mg/kg/24h vs. TD 2 mg/kg/8h	No diferencias en nefrotoxicidad (5%)	No ocurre ototoxicidad	No diferente eficacia (MD 57% vs. TD 51%)	El objetivo es la eficacia. Calcula error β

<u>Autor</u>	<u>Población</u>	<u>Pauta terapéutica</u>	<u>Nefrotoxicidad</u>	<u>Ototoxicidad</u>	<u>Eficacia</u>	<u>Comentarios</u>
Heininger 1993 (187)	26 niños	Tobra o Netilmicina en MD o TD para obtener niveles predeterminados	No valorada	No valorada	No diferente	Nula potencia no calcula valor β
Vanhae verbek 1993 (188)	39 ancianos con infección por BG(-)	Varios AB+Amikacina MD 15 mg/kg/24h vs. BID 7.5 mg/kg/12h	No diferente incidencia	No valorado	No diferente	Escasa potencia
Prins 1993 (189)	123 pac. con sospecha de infección por BG(-) y Crea < 3.4 mg/dl	Gentamicina+Amoxicilina MD 4 mg/kg/24h vs. TD 1.33 mg/kg/8h	MD presenta menor incidencia de nefrotoxicidad que TD (5% vs 24%) Correlación con duración del tratamiento	No diferencia ototoxicidad (3%) con audiometria de alta frecuencia	Respuesta clinica superior de MD	No calcula error β Introduce pacientes con severo deterioro de la función renal Transgrede protocolo
Wagner 1994 (190)	77 niños con sospecha de infección por BG(-)	Amoxicilina o Cefuroxima +Netilmicina en MD de 3.5-6 mg/kg/24h	No valorado	No valorado	No valorado	Estudio farmacodinámico en niños Niveles tisulares se alcanzan más eficazmente con MD

***N-ACETIL
β-GLUCOSAMINIDASA
Y
AMINOGLUCOSIDOS***

Las hidrolasas lisosomales presentes en el hombre son siete ⁽²⁰⁹⁾: α - y β -glucosidasas, β -galactosidasa, β -glucuronidasa, α -fucosidasa, α -manosidasa y β -n-acetil-hexosaminidasa (NAG). Se hallan presentes en todos los tejidos, salvo los hematíes. Todas excepto esta última se excretan en cantidades mínimas por orina.

1. PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DE HEXOSAMINIDASAS

Las "N-acetil- β -D-glucosaminidasas", denominadas también Hexosaminidasas o "2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucósido acetamidodeoxiglucosidasas" constituyen un grupo de enzimas de localización fundamentalmente lisosomal que intervienen en el catabolismo de los gangliósidos GM₂ y GA₂, -glucoesfingolípidos con alto contenido en ácido siálico ⁽²¹⁰⁾.

Se describen dos isoenzimas de la Hexosaminidasa, A y B, con las siguientes características ⁽²¹⁰⁾:

<u>Propiedades</u>	<u>Hexosaminidasa A</u>	<u>Hexosaminidasa B</u>
pH Isoeléctrico	5.4	7.9
Peso molecular	102.000 daltons	100.000 daltons
pH Óptimo	4.4	4.4
Aminoácido aminoterminal	Bloqueado	Bloqueado
Aminoácido carboxiterminal	Serina	Aspártico/asparagina
Sustratos	GM ₂ , GA ₂ , Globósidos, Hexosamin-oligosacáridos	GA ₂ , Globósidos, Hexosamin-oligosacáridos
Estructura propuesta	α - β 2	β 2- β 2

La estructura de ambas isoenzimas no es muy diferente, de tal modo que cuando se realiza una electroforesis en gel de poliacrilamida se observa una única banda. Su porción glucídica constituye el 8-10% de su peso molecular, fundamentalmente ácido siálico. Su porción aminoacídica resulta algo distinta entre ambas, tal y como se muestra a continuación⁽²¹⁰⁾.

<u>Aminoácidos</u>	<u>Hexosa A</u>	<u>Hexosa B</u>	<u>Aminoácidos</u>	<u>Hexosa A</u>	<u>Hexosa B</u>
Aspártico	81	84	Treonina	68	51
Serina	85	60	Glutámico	84.5	88
Prolina	50	61	Glicina	63	67.5
Alanina	66	51	Cistina	13	4.5
Valina	70.5	54	Metionina	7.5	11
Isoleucin	29.5	35	Leucina	78	78
Tirosina	21	36	Fenilalanin	32	44.5
Lisina	46.5	49	Histidina	14	21.5
Arginina	31	35	Glucosamina	8.5	Trazas

Los valores se expresan en residuo por molécula para un Pm de 100.000 daltons.

Los aminoácidos aminoterminales están bloqueadas pues carecen de polaridad. La porción carboxiterminal es la serina y aspártico para la isoenzima A y B respectivamente.

La Hexosaminidasa B posee un único tipo de cadena, beta, en forma de tetrámero ($\beta_2\beta_2$), mientras la isoenzima A consta de una cadena alfa y dos beta ($\alpha\beta_2$). El peso molecular de las cadenas α y β son 58 y 25 kdaltons⁽²¹⁰⁾.

Aparte de las dos isoenzimas principales, A y B, existen en vivo dos formas intermedias I₁ e I₂, con diferente patrón electroforético y cromatográfico -su pI de 6.4 se encuentra entre el de las isoenzimas principales. Se hipotetiza que corresponden a hexosaminidasa A cuando pierde ácido siálico antes de transformarse en la forma B⁽²¹¹⁾.

La función de la Hexosaminidasa es catalizar gangliósidos, separando residuos de siálico en la porción no reductora de la cadena oligosacárida. Ambas hexosaminidasas catalizan el gangliósido GM₂, los globósidos, p-nitrofenilo y 4-metillumbeliferil-β-acetil hexosaminidasa. La isoenzima A además actúa sobre el GM₂ y la N-acetilgalactosmanina. Su velocidad catalítica es 35-40 veces superior a la forma B. Para su actividad óptima se requiere un pH óptimo en ambas, entre 4.4 y 5.2⁽²¹²⁾.

Los métodos de determinación de la actividad catalítica de NAG en suero y orina son similares, tanto fluorométricos como colorimétricos. Aquellos son más sensibles, pero precisa técnicas no disponibles en los laboratorios habituales. El método más usado por ello es el colorimétrico⁽²¹³⁾, que consta de tres etapas: (1) filtración en gel para eliminar de orina un factor inhibidor termoestable y de bajo peso molecular aún no identificado, (2) hidrólisis enzimática del sustrato, habitualmente p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glucosaminida, a pH de 4.4, usando como tampón el citrato, durante un tiempo de incubación de 15-30 minutos a 37°C, y deteniéndose la reacción con solución amortiguante alcalina habitualmente el tampón AMP (2-amino-2-metil-1-propanol hidrocloreuro), y (3) medición espectrofotométrica de la reacción colorimétrica que

produce p-nitrofenolato. Las isoenzimas pueden ser separadas mediante Cromatografía de intercambio iónico.

2.DISTRIBUCION TISULAR Y EXCRECION DE NAG

Se encuentra en todos los tejidos, salvo los hematies⁽²¹²⁾. En suero la proporción A:B es 4:1, representando las formas intermedias el 15%⁽²¹⁴⁾.

El riñón es el órgano con mayor contenido de NAG: tres y cinco veces más que hígado y placenta⁽²¹⁰⁾. El túbulo proximal es el segmento con mayor actividad; el glomérulo es el de menor, seguido por asa de Henle, túbulo colector y pars recta⁽²¹¹⁾. La NAG B se localiza de modo casi exclusivo en las CTP, y las formas intermedias además en el glomérulo. La porción medular presenta similar perfil isoenzimático, salvo que carecen de formas I⁽²¹¹⁾.

Sobre homogeneizados celulares de conejo y rata⁽²¹⁵⁾ se ha identificado que: (a) el 75% de la actividad hexosaminidasa se localiza en la fracción soluble citosólica donde actúa como endo-catalasa, (b) el 15-20% se localiza en la fracción nuclear y (c) el resto se encuentra en lisosomas y mitocondrias actuando como exo-hexosaminidasas encargándose del metabolismo de glicoproteínas y glicoesfingolípidos.

En individuos sanos la enzimuria es casi exclusivamente NAG A por exocitosis, y cuando ocurre daño renal aparece la isoenzima B en orina. Sin embargo la determinación de isoenzimas no aporta mayor información que la cuantificación de la

actividad total, pues el incremento de la NAG B no resulta específico^{(211) (216)}.

La cromatografía de intercambio iónico muestra que la hexosaminidasa eluye en cuatro picos⁽²¹⁷⁾: la forma A supone 85-90%, la B 5-8%, y los componentes I1 e I2 un 2%. Cuando se produce daño renal el patrón isoenzimático se altera: incrementa los componentes intermedios, disminuye notablemente la forma A, manteniéndose la isoenzima B⁽²¹⁷⁾. Para explicar tal alteración se barajan dos hipótesis: (a) según Kind⁽²¹⁴⁾ se produciría un bloqueo en la proteosíntesis de la propia NAG por el agente nefrotóxico a la altura del aparato de Golgi, donde se encuentran las formas I en su metamorfosis desde la isoenzima B ribosomal a la hexosaminidasa A -ya sializada- y (b) según Bourbouze⁽²¹¹⁾ la nefrotoxina inestabilizaría la membrana lisosomal, excretándose la forma B presente en su porción membranosa en mayor proporción que la isoenzima A, propia del citosol de la organela.

La excreción urinaria de NAG presenta importantes variaciones inter⁽²¹⁸⁾ e intraindividuales^{(219) (220) (221) (222)}, sin poder definir una excreción normal o de referencia para todos los enfermos. Por ello los niveles basales individuales son los valores referenciales de los incrementos que se puedan producir en el seno de la nefrotoxicidad. Se reconoce una influencia circadiana en su excreción, que se obvia recogiendo a idéntica hora la orina en los estudios. De este modo se pondera la excreción urinaria de NAG con la de Creatinina.

La excreción urinaria de NAG es progresivamente descendente durante la lactancia, hasta alcanzar valores propios de adulto a los 2-3 años, del mismo modo que

ocurre con otras enzimas lisosomales - β galactosidasa- y BMG, y a la inversa que las enzimas de membrana celular^{(219) (223)}.

Los valores propios de personas sanas dependen del sustrato utilizado; utilizando *p*-nitrofenil-*N*-acetil- β -D-glucosaminida en niños menores de 3 años su valor de referencia es 8.1 +/- 2.7 y en adultos de 3.6 +/- 1.3 UI/gramo de creatinina^{(213) (214) (222)}.

3.APLICACION CLINICA DE LA NAG

La NAG que se determina en orina es virtualmente toda de origen renal porque su alto peso molecular impide que sea filtrada por un glomérulo intacto. Por ello se utiliza en: (a) diagnóstico y seguimiento de nefropatías, y (b) estudio de la capacidad nefrotóxica de fármacos.

La excreción urinaria de NAG se ha utilizado en el estudio de⁽²¹²⁾:

(1).Enfermedad de Tay-Sachs, debida al déficit de hexosaminidasa A, que se mide en leucocitos. La determinación urinaria resulta útil para diferenciar entre portadores heterocigotos y enfermos homocigotos en familiares del probando.

(2).Afectación renal por enfermedades sistémicas. Existe múltiples datos sobre: (a) Artritis reumatoide correlacionándose la enzimuria con la actividad de la enfermedad en presencia de aclaramiento de creatinina normal, (b) diabetes mellitus encontrándose elevada tanto su actividad sérica como urinaria, precediendo esta última la aparición de microalbuminuria y siendo reversible con buen control metabólico, (c) hipertensión arterial en que se usa como marcador de isquemia renal en formas vasculorrenales y se

normaliza tras instaurar tratamiento médico o revascularizador, y (d) mieloma múltiple usado por algún autor como marcador precoz de tubulopatía.

(3). *Enfermedades renales.* Autores como Jung ⁽²²⁴⁾ afirman que la excreción urinaria de NAG es test más sensible que otros parámetros -creatinina sérica y su aclaramiento o enzimuria de membrana- para detectar disminución de función renal. Así se ha utilizado en: (a) glomerulonefritis donde existe correlación de proteinuria con excreción de NAG por aumento de permeabilidad, (b) nefropatías tubulointersticiales hallándose relación con el grado de actividad de la lesión celular, (c) en infecciones altas de tracto urinario, (d) tumores uroteliales por turnover celular alto, (d) trasplante renal permitiendo discriminar entre rechazo agudo y toxicidad por ciclosporina o NTA postquirúrgica, (e) hemodiálisis y CAPD, y (f) litotricia.

(4). *Fármacos varios.* Se ha descrito incremento de la excreción urinaria de NAG con: (a) AAS, dosis dependiente, que no otros AINEs, y se supone en relación con un mecanismo específico de exfoliación celular propio de la aspirina, (b) Sales de Oro, en posible relación con formación de inmunocomplejos sobre la CTP, (c) Cis-platino y Metotrexate, (d) Furosemida y diuréticos osmóticos en relación con acción farmacodinámica sobre túbulo renal, (e) Compuestos laborales: mercurio, plomo o solventes orgánicos volátiles, (f) Radiocontrastes y (g) Ciclosporina A.

4. NAG Y AMINOGLUCOSIDOS

Gonick⁽²²⁵⁾ definió unos criterios para selección de enzimas urinarias capaces de detectar enfermedad renal. Y estos son:

-La enzima debe encontrarse en altas concentraciones en el parénquima renal, pero se hallará ausente o en sustancial menor concentración en el tracto urinario inferior

-El peso molecular de la enzima deberá ser lo bastante grande como para que la enzima derivada de otros órganos y circulante en sangre no aparezca en la orina.

-La contribución bacteriana y del sedimento urinario en la actividad enzimática será mínima.

-La actividad enzimática permanecerá estable durante varios días en nevera.

-Los agentes inhibidores de la actividad enzimática estarán ausentes de la orina, o si se hallan presentes deben ser eliminables por diálisis.

-La determinación debe ser reproducible, precisa y válida.

Todo esto ha sido confirmado por Kunin⁽²²³⁾ para la determinación de la NAG urinaria. Y todo ello se resume en que presente suficiente sensibilidad y apropiada especificidad para el diagnóstico de nefrotoxicidad o tubulopatía por AG. A su vez varía según el coeficiente de la NAG, el criterio utilizado para definir nefrotoxicidad y la población estudiada^{(217) (226) (227)}.

La sensibilidad de la NAG utilizando criterios convencionales - Δ NAG > 2 veces su valor basal⁽²²⁶⁾- oscila entre el 72 y 98% , su especificidad se mueve en el rango del 68-72% y la eficacia diagnóstica entre 70 y 78%. Por contra cuando se utilizan criterios

más restrictivos - Δ NAG >7 veces su valor basal⁽²²⁷⁾- la sensibilidad desciende al 44% y su eficacia se incrementa.

La excreción urinaria de NAG se ha demostrado tanto experimentalmente como en clínica que es un marcador precoz de tubulopatía, que precede a la aparición de nefrotoxicidad^{(12) (27) (42) (44) (57) (199) (216) (218) (228) (223) (226) (229) (230) (231) (232)} valorada como Δ Creatinina o descenso de su aclaramiento en 3-5 días.

La correlación entre el Δ NAG y el Δ Creatinina ha sido establecido por Donta⁽²¹⁸⁾, y cuantificado por Sethi⁽²²⁶⁾ en un 58% (cuando el Δ NAG es el doble del valor basal y el Δ Creatinina es de al menos el 20% del valor basal). Gibey^{(217) (227)} también ha encontrado correlación entre el Δ NAG y el Δ BMG.

La correlación entre el Δ NAG y los hallazgos patológicos de daño tubular renal ha sido demostrado por Adelman en perros⁽²²⁸⁾; tal estudio no ha sido realizado en humanos.

Los factores que influyen en la excreción urinaria de NAG en el tratamiento con AG identificados hasta el momento son:

-Dosis de AG. Aunque a nivel experimental Powell⁽²³³⁾ ha identificado un cierto efecto inhibitor sobre la liberación de NAG, α - y β -galactosidasas con dosis bajas de AG, que desaparece al incrementar la dosis, a nivel clínico no se ha objetivado probablemente porque las dosis usadas no presentan tal efecto.

-El AG concreto presenta perfil isoenzimático diferente. Moser y Gibey⁽²³⁴⁾ han

mostrado in vitro que GN, netilmicina y dibekacina elevan específicamente la isoenzima B y en menor medida las formas I, mientras la tobramicina inhibe las formas A e I; la amikacina in vitro inhibe la excreción de NAG mediante un mecanismo competitivo. En clínica el incremento es fundamentalmente de la forma B. Mientras Donta⁽²¹⁸⁾ ha demostrado diferente valor absoluto en el Δ NAG urinario entre distintos AG, induciendo mayor actividad la GN que la tobramicina, Feig⁽²³⁵⁾⁽²³⁶⁾ no lo ha objetivado. Los distintos componentes de la GN, C₁ y C₂, presentan idéntica potencia inhibitoria para liberar NAG desde lisosomas.

-Drogas asociadas, ya enumeradas anteriormente.

-Las enfermedades hepáticas, tanto a nivel experimental como en clínica humana no incrementan la excreción de NAG⁽²³⁷⁾.

-La fiebre de origen no renal puede incrementar la enzimuria, y según Sandberg⁽²³⁸⁾⁽²³⁹⁾ su causa sería la presencia de disfunción tubular.

-La cirugía puede elevar precozmente la NAG⁽²²³⁾.

La NAG se incrementa en los primeros días de tratamiento -Gibey⁽²²⁷⁾ lo aprecia tan precozmente como al segundo día- pudiéndose mantener elevada durante 8-10 días, para posteriormente disminuir, aún cuando siga la administración de AG. La razón para ello la ofrece Meisner⁽²⁴⁰⁾ como finalización de la neosíntesis enzimática de las isoenzimas B e I al descamarse las CTP dañadas. En animales se ha comprobado antecede al incremento de creatinina en 3-5 días, lo que se ha confirmado posteriormente en clínica.

Gibey⁽²²⁷⁾ ha reconocido que un valor basal de NAG >200 μmol/día, y un ΔNAG máximo superior a 7 veces el valor basal o de 1500 μmol/día durante la primera semana se asocia a un riesgo muy elevado de disminución importante del aclaramiento renal. Además apreció tres patrones de actividad enzimática de NAG urinaria, de significado incierto: (a) doble pico, asociándose el segundo al desarrollo de Δcreatinina, (b) incremento lineal, progresivo y que antecede al Δcreatinina y (c) pico único tardío.

Los distintos trabajos han utilizado diferentes coeficientes y criterios de nefrotoxicidad para NAG. En principio se utilizó : (a) la excreción total de NAG -con valor normal <200 μmol/día⁽²²⁷⁾. Por la variabilidad intrapersonal posteriormente se usó ponderado con la creatinimuria: (b) ratio NAG/creatinina en orina -valor normal< 2 veces el valor basal⁽²²⁶⁾. Para superar la variabilidad individual en la enzimuria se han estimado coeficientes que estudian el incremento sobre valores basales⁽²⁴¹⁾:

$$(NAG_{pico}-NAG_{basal}) / NAG_{basal}$$

O bien el denominado Índice de Excreción Enzimática de NAG (IEE_{NAG})^{(241) (242)}:

$$(NAG_{pico}-NAG_{basal}) \times (NAG_{pico}-NAG_{basal}) / NAG_{pico}$$

Este índice permite ponderar el incremento absoluto de enzimuria con el valor relativo que tal incremento representa respecto a un valor de referencia, bien pico o basal, dada la variabilidad individual de la excreción de NAG, y permitiendo valorar de modo apropiado incrementos moderados sobre niveles basales bajos de excreción de NAG.

β_2 -MICROGLOBULINA
Y
AMINOGLUCOSIDOS

1. FARMACOCINETICA DE LA BMG

La BMG es una proteína de bajo peso molecular -11800 daltons- compuesta de 100 aminoácidos, que se ha identificado en la cadena ligera de la clase mayor de histocompatibilidad, HLA-I, y se halla ligada mediante enlace no covalente disulfúrico a la cadena pesada⁽¹⁹¹⁾.

En suero aparece libre y disociada de su cadena pesada en al menos el 95% de su concentración sérica, cuyo rango es 0.8-2.5 mg/l⁽¹⁹¹⁾. La tasa de producción diaria es 150-200 mg/día⁽¹⁹²⁾. Su vida media es corta: 2 horas⁽¹⁹³⁾.

El 95% de la BMG es filtrada por el glomérulo, y es casi completamente reabsorbida por el túbulo proximal -el 99.9% en riñones normales de adulto⁽¹⁹¹⁾. El riñón adquiere la capacidad de reabsorción propia del adulto a los 21 meses de edad. La excreción urinaria diaria oscila entre 300 y 370 ug/día⁽¹⁹²⁾. Se incrementa en presencia de infusión endovenosa de ciertos aminoácidos -ornitina, arginina o lisina- que bloquean los receptores de la membrana celular de las CTP⁽¹⁹¹⁾. La presencia de un umbral de reabsorción es tema de debate: según Wibell⁽¹⁹⁴⁾ sería de 4.5 mg/l, pero no se ha confirmado posteriormente⁽¹⁹⁵⁾.

La BMG forma parte de las denominadas "proteínas de bajo peso molecular" junto a Lisozima y la Proteína Transportadora de Retinol (RBP), que se filtran y reabsorben en túbulo proximal⁽¹⁸⁾. Parvianen ha reconocido una correlación en la tasa de excreción durante el tratamiento con AG de $r = 0.87$ entre ellas⁽¹⁹⁶⁾.

La excreción urinaria de la BMG no es uniforme a lo largo del día, presentando un ritmo circadiano, máximo a las 15 horas y mínimo a las 4 h⁽¹⁹¹⁾.

En la actualidad⁽¹⁹⁷⁾ se sabe además que puede existir una vía alternativa con captación desde la circulación capilar peritubular, internalización en CTP y proteólisis.

2.APLICACION CLINICA DE LA BMG

La BMG sérica ha sido motivo de estudio en patología inmunohematológica⁽¹⁹¹⁾: (a) artritis reumatoide y sind. Sjögren, (b) LES, (c) enfermedad inflamatoria crónica intestinal, (d) enf. linfoproliferativas, (e) amiloidosis en pacientes en diálisis e (f) infección por VIH como marcador pronóstico. Un filtrado glomerular disminuido puede elevar los niveles séricos sin enfermedad sobreañadida.

La BMG urinaria se incrementa en⁽¹⁹¹⁾: (a) el tratamiento con aminoglucósidos, cisplatino, sales de oro, ciclosporina o contrastes yodados, (b) contacto con metales pesados tipo cadmio o mercurio, (c) infecciones del t. urinario, (d) tubulopatías en el seno del sind. Fanconi, enf. Wilson, nefrocalcinosis, hipokaliemia crónica, cistinosis o galactosemia y (e) nutrición parenteral por su riqueza en aminoácidos. Algunos autores lo han utilizado en el diagnóstico diferencial del sind. hepatorenal frente la NTA en cirróticos⁽¹⁹⁸⁾.

En el seno de cualquier tubulopatía puede haber incremento de la BMG sérica, bien por aumento de su síntesis o bien por disminución de la captación de BMG desde los capilares peritubulares.

3. BMG Y AMINOGLUCOSIDOS

*La eficacia diagnóstica de la excreción urinaria de BMG en el estudio de la tubulopatía por AG no supera a la de la NAG. Presenta similar **sensibilidad**, pero menor **especificidad**⁽¹⁹⁹⁾. Y esto viene condicionado por una serie de hechos:*

-La degradación de la BMG en orina cuando el pH urinario es inferior a 6, que se obvia despreciando la primera orina de la mañana⁽¹³¹⁾.

-La unión ocasional de la BMG sérica a proteínas no filtrables⁽¹³¹⁾.

-La catálisis de la proteína por enzimas leucocitarias en presencia de infecciones urinarias⁽¹⁹¹⁾.

-La presencia de una extracción renal de BMG superior a la propia de la reabsorción tubular desde el lumen, debido a la presencia de una vía de resorción desde capilares peritubulares⁽¹⁹⁷⁾.

-La presencia de umbral de reabsorción según los primeros trabajos de Wibell⁽¹⁹⁴⁾ impediría la interpretación de la proteinuria como expresión de daño celular. Sin embargo, considerando que varios autores⁽¹⁹⁵⁾ posteriormente no han confirmado tales hallazgos, se apoyaría un mecanismo no saturable inducido por daño en la membrana de las CTP.

Considerando estos hechos conocidos, puede utilizarse la BMG como marcador de nefrotoxicidad seleccionando la población y la recogida de muestras, para limitar la incidencia de falsos positivos y negativos. Y esto viene apoyado por numerosos autores^{(55) (191) (200) (201) (202) (203) (204) (205) (206)}.

*La BMG es un marcador precoz que precede en 3-5 días al incremento de la Creatinina^{(200) (203)}. Según Ylitalo⁽²⁰⁷⁾ la proteinuria por RBP, lisozima y BMG es anterior al de la NAG durante el tratamiento con AG; esto no ha sido objetivado por otros autores. La **correlación** con el Δ NAG no supera según algún autor el 50% durante el tratamiento con AG, y con el Δ Creatinina el 25-30%⁽¹⁹⁹⁾; sin embargo estos valores están en función de la dosis utilizada y de la duración del tratamiento. Según Tulkens^{(12) (42) (167)} se correlaciona con la fosfolipiduria.*

Los factores que afectan la excreción urinaria de BMG son:

-La dosis de AG, de modo directamente proporcional, aunque no ha sido identificado en todos los estudios⁽¹³¹⁾.

-El tipo de AG está en discusión. Según Gatell⁽²⁰²⁾ no hay variación entre tobramicina y amikacina, pero Walenkamp⁽¹⁹⁵⁾ estudiando el presunto umbral de resorción encontró que era siete veces superior para tobramicina que para GN.

-La enfermedad hepática no se ha demostrado ni en animales ni en estudios humanos que afecte la excreción urinaria de BMG⁽²⁰⁵⁾.

-La fiebre incrementa la BMG sérica y su excreción urinaria^{(208) (919)}.

-La cirugía incrementa su síntesis y excreción, ya que por la reacción de stress los linfos se activan liberando BMG⁽¹⁹¹⁾.

Los patrones de excreción de BMG son similares a los descritos para la NAG: (a) doble pico, (b) incremento lineal y (c) pico tardío único⁽²⁰¹⁾.

Los coeficientes de la BMG, considerando la variación intraindividual y la comodidad que supone recoger una muestra aislada que no total de un día, son ponderados con la excreción urinaria de creatinina. A este parámetro se denomina Fracción de Excreción de BMG⁽¹⁹¹⁾:

$$(BMG \text{ orina} \times \text{Crea sérica}) / (BMG \text{ sérica} \times \text{Crea orina})$$

Este coeficiente ha sido utilizado por numerosos autores^{(191) (192)}. Algunos autores han pretendido establecer un valor concreto para definir nefrotoxicidad -desde 0.1 a 0.36- pero probablemente resulta más útil en estudios comparativos no perder información reduciendo un valor cuantitativo a otro cualitativo. Pero sin duda lo que ofrece mayor información es el incremento de tal coeficiente sobre el valor basal^{(192) (202)}.

OBJETIVO

Los regímenes de administración única diaria de aminoglucósidos se basan en la capacidad de prolongar el intervalo de dosificación -merced a la presencia de efecto postantibiótico y la no aparición de resistencia adaptiva- sin perder eficacia -porque su actividad bactericida no depende del tiempo que permanecen los niveles séricos sobre la MIC, sino del área bajo la curva concentración-tiempo (equivalente de la dosis total).

En los últimos años se han realizado diversos ensayos clínicos que han estudiado la eficacia y toxicidad de la administración diaria única de aminoglucósidos^{(42) (101) (142) (163) (169) (171) (173) (180) (185) (189)}. Y así mientras se ha demostrado idéntica tasa de curación clínica y erradicación microbiológica en la mayoría de los estudios, los resultados no muestran de modo definitivo menor nefro u ototoxicidad de la monodosis respecto a los regímenes fraccionados convencionales⁽²⁵⁸⁾.

El comportamiento farmacocinético de cada aminoglucósido es diferente, por lo que cada uno de ellos debe estudiarse de modo individualizado.^{(13) (27) (61) (62) (63)} Además resulta llamativa la escasez de ensayos con gentamicina, el más utilizado en nuestro país.

De estas consideraciones surge la necesidad de analizar si existe diferente incidencia de toxicidad renal entre la administración de gentamicina en forma de mono y triple dosis, utilizando como variables de estudio diversos marcadores de función tubular -fracción excrecional de sodio, excreción urinaria de Beta-2 microglobulina y N-acetil beta-glucosaminidasa- que son considerados por numerosos autores parámetros más sensibles y de aparición más precoz que el incremento de creatinina.^{(12) (27) (42) (44) (579) (199) (200) (203)(216) (218) (223) (226)(228)(229)}

MATERIAL Y METODOS

1. POBLACION

Se han incluido todos aquellos pacientes adultos -en concreto 54 individuos- que recibieron tratamiento con gentamicina por sospecha de infección severa por bacilos gram negativos durante al menos cinco días, en los servicios de Medicina Interna y Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Doce de Octubre en un periodo de observación de un año.

Se excluyeron todas aquellas personas que presentaban:

- Creatinina sérica basal superior a 1.5 mg/ml.*
- Alergia conocida a aminoglucósidos.*
- Administración de aminoglucósidos en los quince días previos.*
- Infección del tracto urinario.*
- Neutropenia (con recuento inferior a 1000 polimorfomucleares/ ml).*
- Inmunosupresión severa o infección por VIH.*
- Enfermedades del colágeno o vasculitis.*
- Historia previa de hipoacusia o alteración vestibular.*
- Diabetes mellitus*
- Embarazo.*
- Uso de diuréticos o de nutrición parenteral.*
- Expectativa de vida inferior a un mes.*

El estado de gravedad de los individuos fue valorado según el sistema de clasificación APACHE II⁽²⁴³⁾, excluyendo pH arterial y pO₂^{(169) (171) (173)}.

Como grupo control se utilizaron 20 pacientes con sospecha de infección severa por bacilos gram negativos que no recibieron aminoglucósidos y cumplían los anteriores criterios de exclusión.

En los pacientes operados la indicación de cirugía fue: colecistectomía (5 pacientes), apendicectomía (4) y cáncer de colon (1). En el grupo no intervenido la patología que presentaban era: colangitis / colecistitis (4 pacientes), diverticulitis (1), peritonitis bacteriana espontánea (1), absceso pulmonar y neumonía aspirativa (2) e infección de tejidos blandos (2).

Los antibióticos utilizados en estos pacientes fueron: cefalosporinas y penicilinas (amoxicilina-clavulánico) asociado a metronidazol y clindamicina.

2.DISEÑO DE ESTUDIO Y TRATAMIENTO.

Se trata de un ensayo clínico, donde los pacientes reclutados han sido asignados aleatoriamente a uno de los dos regimenes de administración de gentamicina: monodosis (3 mg /kg /24 h) y triple dosis (1 mg/ kg /8 h).

La dosis de aminoglucósido se modificó de acuerdo a los niveles séricos de gentamicina y a la función renal:

-Se suspendía cuando la creatinina sérica durante el tratamiento excedía el valor de 2 mg/dl.

-En el regimen de monodosis se mantuvo idéntica dosificación si el valle era inferior a 1.5 mg/dl, se redujo a la mitad entre 1.5 y 2 mg/dl y se suspendía dosis subsiguiente si era superior a 2 mg/dl. En el régimen fraccionado se mantenía idéntica dosis si el valle era inferior a a 2 mg/dl; si el valle era superior a 2 mg/dl se suspendían dosis posteriores cuando aparecía nefrotoxicidad -definido como creatinina superior a 1.5 mg/dl durante el tratamiento- y se reducía a la mitad en su ausencia.

El valle sérico se extraía inmediatamente de la dosis siguiente, mientras el pico 30 minutos después de la administración previa de gentamicina.

La determinación de niveles séricos de gentamicina se realizó mediante inmunofluorescencia polarizada, con la técnica TDX (TDX Abbott Diagnostics. Irving. Texas)

La evolución clínica se consideró: favorable, desfavorable e indeterminada, de acuerdo a criterios que se enuncian en apartados posteriores^{(169) (171)}.

Fueron extraídas muestras de sangre al inicio del estudio, a las 24 horas, y posteriormente cada 48 horas, incluida una tras finalizar el tratamiento. Las muestras de orina se recogieron con idéntica periodicidad.

Las muestras de sangre han sido utilizadas para determinar creatinina, sodio, BMG y niveles séricos de gentamicina. En orina se ha determinado la NAG, BMG, sodio y creatinina.

4.METODOS EN LABORATORIO

Las muestras recogidas con la periodicidad descrita previamente se analizaron para determinar:

4A.BETA-2 MICROGLOBULINA

Se ha medido mediante radioinmunoensayo de doble anticuerpo "Pharmacia β_2 -micro RIA" (Pharmacia AB, Uppsala, Suecia), por el que la BMG de la muestra compete con una cantidad fija de BMG marcada con ^{125}I , para los sitios enlazantes en los anticuerpos específicos. Se incubó la mezcla por 1 hora a temperatura ambiente.

Las fracciones enlazadas y libres de la BMG se separan mediante la adición de una suspensión inmunoabsorbente de doble anticuerpo (Sephacrose -anti IgG de oveja, aislados de caballo), seguida de centrifugación (durante 10 minutos a 1500 r.p.m.) y decantación (mediante gradillas específicas, Pharmacia Diagnostics) mediante inversión del tubo sobre papel secante. El precipitado, compacto, se utiliza entonces para determinar la radiactividad mediante un contador de radiación gamma (LKB, Pharmacia AB, Uppsala, Suecia).

El manejo de las muestras de sangre requiere dejar coagular y separar el suero mediante centrifugación (durante 10 a 20 minutos a 1500 r.p.m.); las muestras se almacenan a -40°C , persistiendo estable durante al menos 1 año.

El manejo de las muestras de orina requiere desprestigiar la primera orina de la mañana, y recogerla 1 hora después tras ingesta de líquido; el pH se ajusta entre 6 y 8 con NaOH y ClH 1 M; las muestras se almacenan a -40°C ; persiste estable por 2 meses.

La sensibilidad del test sobre la muestra es <0.150 mg /l. El rango de medición es de 0.2 a 32 mg / dl; se extendió el mismo mediante dilución. En suero el coeficiente de variación intraprueba es de 3.9% y de 5.2% interprueba. En orina el coeficiente de variación intraprueba es de 6.2% y de 7% interprueba.

El rango de valores normales de BMG en sangre, determinado en 100 individuos sanos en nuestro laboratorio es de 0.34 a 2.12 mg / dl. El rango de valores normales de BMG en orina ofrecida por el propio laboratorio farmacéutico es <0.300 mg / l.

El valor utilizado fue la FRACCION DE EXCRECION DE β_2 -MICROGLOBULINA (FEBMG) ^{(191) (192)}:

$$FEBMG = (BMG \text{ orina} \times \text{Creatinina sérica}) / (BMG \text{ sérica} \times \text{Creatinina orina})$$

La FEBMG carece de unidades, pues:

BMG orina y sérica se expresa en mg /l.

Creatinina orina se expresa en g /dl.

Creatinina sérica se expresa en mg/dl.

La toxicidad tubular se valoró mediante la diferencia entre el valor máximo y el basal - previo al tratamiento- ponderado por un valor de referencia -el de la máxima excreción de BMG:

$$(FEBMG \text{ máxima} - FEBMG \text{ basal}) / FEBMG \text{ máxima}$$

La capacidad de regeneración de una función tubular normal se valoró mediante la diferencia entre el valor máximo y uno posterior de la excreción urinaria de BMG (escogido el día 5 porque todos los pacientes recibieron tratamiento al menos hasta ese día), ponderado por un valor de referencia -concretamente el valor pico:

$$(FEBMG \text{ máxima} - FEBMG \text{ del día 5}) / FEBMG \text{ máxima}$$

4B. N-ACETIL- β -D-GLUCOSAMINIDASA (NAG)

Se ha utilizado el método de Noto y col. ⁽²⁶⁷⁾, colorimétrico, que se basa en la hidrólisis enzimática del sustrato por la actividad catalítica de la NAG, midiéndose fotométricamente, mediante la prueba "N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase" (Boehringer Mannheim Biochemica, cat. n° 875 406. Mannheim. Alemania). Consta de las siguientes fases:

-Filtración mediante cromatografía en gel a través de columnas de Sephadex G-25 M (Columna PD-10, Pharmacia n° 52-1308-00-03. Uppsala. Suecia). Las etapas de esta fase son: (a) lavado de la columna con 16 ml de solución salina 0.15 M, (b) adición de 1.6 ml. de sobrenadante urinario eliminando el eluido, (c) lavado de columna con 0.8 ml. de solución salina eliminando de nuevo el eluido, (d) adición de 3.2 ml de solución salina 0.15 M, recogiendo el eluido, (e) regeneración de la columna con 40 ml. de solución salina 0.15 M que lleva incorporada azida sódica 3.1 mM. Los eluidos se pueden conservar a -20 ° C durante 1 mes.

-El eluido recogido en la fase (d) se utilizó para determinar la actividad enzimática de la NAG mediante el método colorimétrico a punto final descrito, que utiliza como sustrato la 3-cresolsulfonftaleínil-N-acetil- β -D-glucosaminida incluido en tampón citrato, el cual es hidrolizado por la NAG de la muestra, liberándose N-acetilglucosa y 3-cresolsulfonftaleína, compuesto medido fotométricamente.

-Determinación automatizada en un autoanalizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim) del sustrato cresolsulfonftaleína, medido a 580 nm, ajustando los tiempos de reacción y volúmenes de reactivo. La reacción se estandarizó usando controles de calidad liofilizados Precinorm β -NAG (cat. n° 1 164 368) y Precimat β -NAG (cat.

nº 1 164 350) para valores alrededor de 10 U / l y de 100 U / l respectivamente. La actividad obtenida se multiplicó por el factor de dilución, que fue 2.

El manejo de la orina requiere la centrifugación de un volumen de 10 ml. a 1500 r.p.m. durante 10 minutos.

El coeficiente de variación intraprueba es de 1.5% e interprueba de 4.9%.

El valor utilizado para estudiar el incremento de su concentración en orina fue el INDICE DE EXCRECION ENZIMATICA DE NAG (IEE_{NAG})^{(241) (242)}:

$$(NAG \text{ pico} - NAG \text{ basal}) \times (NAG \text{ pico} - NAG \text{ basal}) / NAG \text{ pico}$$

La actividad enzimática de NAG se mide en UI / gramo de creatinina en orina.

4C.CREATININA

Se determinó tanto en sangre como en orina mediante el sistema analizador AU 5000, basado en el método de Jaffé (Creatinine-Jaffé method. E. Merck. Darmstadt. Alemania).

4D.SODIO

La determinación del ión sodio se realizó mediante un fotómetro en llama, tanto en suero como en orina (IL 543, Instrumentation Laboratory, s.p.A; Medical Europe. Milan, Italia). El parámetro utilizado, dada la variabilidad de la natriuresis entre distintas muestras recogidas de un mismo individuo, es la FRACCION DE EXCRECION DE SODIO (FENa)⁽²⁶⁶⁾:

$$FENa = (Na\ orina \times Creatinina\ sérica) / (Na\ sérico \times Creatinina\ orina) \times 100$$

FENa carece de unidades porque:

Na en orina y sérico se expresa en mEq /l.

Creatinina sérica en mg /dl.

Creatinina en orina en g /dl.

La toxicidad renal se valoró mediante la diferencia entre la natriuresis máxima y basal, ponderado por un valor de referencia, la excreción pico de sodio:

$$(FENa\ máxima - FENa\ basal) / FENa\ máxima$$

La capacidad de adquirir una natriuresis normal durante el tratamiento con gentamicina se valoró mediante la diferencia entre la excreción máxima de sodio y uno posterior -escogido el día 5 por la razón previamente explicada- ponderado por un valor de referencia -la misma natriuresis máxima:

$$(FENa\ máxima - FENa\ día\ 5) / FENa\ máxima$$

5.METODO ESTADISTICO

El análisis estadístico ha sido realizado mediante un paquete estadístico, utilizando las siguientes herramientas^{(244) (245) (246) (247) (248)}.

-Prueba de Kolmogorov-Smirnov para demostrar la normalidad de la distribución muestral.

-Prueba de hipótesis de Neyman-Pearson para la comparación de proporciones.

-Prueba t de Student para la Comparación de dos medias para datos independientes y datos pareados.

-Análisis de varianza (ANOVA) de dos factores para la comparación de varias medias. Para los contrastes significativos se aplicó la Prueba de Comparaciones Múltiples de Neuman-Keuls.

-Estudio de Correlaciones entre variables cuantitativas.

-Ajuste de datos mediante Regresión Lineal cuando existía relación causal entre dos variables cuantitativas y la correlación entre ellas era significativa.

Los pruebas aplicadas fueron de 2 colas. Se consideró significativo cuando la $p < 0.05$.

RESULTADOS

I. ESTADISTICA BASICA Y ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS EPIDEMIOLOGICAS DE LOS PACIENTES

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>Edad (años)</i>	<i>Sexo (varon:hembra)</i>	<i>Score de gravedad</i>
<i>Global</i>	54	59 +/- 14 (55 - 63)	36 : 18	6.1 +/- 3.1 (5.2 - 6.9)
<i>Monodosis (MD)</i>	27	57 +/- 14 (52 - 63)	14 : 13	5.8 +/- 2.8 (4.7 - 6.9)
<i>Triple dosis (TD)</i>	27	60 +/- 13 (55 - 65)	22 : 5	6.3 +/- 3.3 (5.0 - 7.5)
<i>No operados</i>	26	56 +/- 16 (49 - 62)	19 : 7	6.5 +/- 3.5 (5.1 - 7.8)
<i>Operados</i>	28	62 +/- 11 (58 - 66)	17 : 11	5.6 +/- 2.6 (4.6 - 6.6)
<i>MD no operados</i>	13	53 +/- 17 (44 - 63)	8 : 5	6.0 +/- 3.4 (4.2 - 7.9)
<i>TD no operados</i>	13	58 +/- 16 (49 - 67)	11 : 2	7.0 +/- 3.6 (5.0 - 8.9)
<i>MD operados</i>	14	61 +/- 11 (55 - 67)	6 : 8	5.6 +/- 2.3 (4.4 - 6.8)
<i>TD operados</i>	14	62 +/- 10 (57 - 68)	11 : 3	5.6 +/- 3.0 (4.0 - 7.2)

Los valores representados son la media +/- desviación estándar. Entre paréntesis se expresa el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

El score de gravedad no se ha demostrado distinto entre los dos regímenes de administración: MD y TD ($F = 0.29$, $Pr = 1$, n.s.), ni se ha comprobado influido por la presencia de cirugía ($F = 1.1$, $Pr = 0.29$, n.s.).

La edad no es distinta entre los dos grupos de tratamiento ($F = 0.29$, $Pr = 1$, n.s.) ni es diferente ante la presencia de cirugía ($F = 2.44$, $Pr = 0.12$, ns).

2. ESTADISTICA BASICA Y ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS DEL TRATAMIENTO

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>Dosis fraccionada de Gentamicina (mg/día)</i>	<i>Duración del tratamiento (días)</i>	<i>Dosis total de Gentamicina (mg)</i>
<i>Global</i>	54	195 +/- 36 (185 - 205)	9.8 +/- 3.7 (7.9 - 9.9)	1738 +/- 747 (1539 - 1937)
<i>Monodosis (MD)</i>	27	187 +/- 33 (174 - 199)	9.3 +/- 4.1 (7.8 - 10.9)	1745 +/- 774 (1453 - 2037)
<i>Triple dosis (TD)</i>	27	204 +/- 37 (189 - 218)	8.5 +/- 3.2 (7.2 - 9.7)	1731 +/- 733 (1454 - 2007)
<i>No operados</i>	26	192 +/- 37 (177 - 206)	10.1 +/- 4.7 (8.2 - 11.9)	1940 +/- 925 (1584 - 2296)
<i>Operados</i>	28	198 +/- 35 (185 - 211)	7.8 +/- 2.1 (7.1 - 8.6)	1550 +/- 476 (1374 - 1727)
<i>MD no operados</i>	13	183 +/- 32 (166 - 201)	10.7 +/- 5.6 (7.6 - 13.8)	1963 +/- 1015 (1411 - 2515)
<i>TD no operados</i>	13	200 +/- 41 (178 - 223)	9.4 +/- 3.6 (7.4 - 11.3)	1916 +/- 866 (1445 - 2387)
<i>MD operados</i>	14	190 +/- 34 (171 - 208)	8.1 +/- 1.1 (7.4 - 8.6)	1542 +/- 392 (1337 - 1748)
<i>TD operados</i>	14	207 +/- 34 (188 - 225)	7.6 +/- 2.8 (6.1 - 9.1)	1558 +/- 563 (1263 - 1853)

Los valores representados son la media +/- la desviación estándar. Entre paréntesis se expresa el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

La dosis fraccionada utilizada no resulta diferente entre los dos regimenes de administración: MD y TD ($F = 0.41$, $Pr = 1$, n.s.), ni aparece afectada de modo significativo por la presencia de cirugía ($F = 3.03$, $Pr = 0.09$, $p < 0.1$).

La duración del tratamiento con GN no se ha demostrado distinta entre ambos modos de dosificación ($F = 0.83$, $Pr = 1$, n.s.), pero sí se ha comprobado diferente entre pacientes operados y no sometidos a cirugía ($F = 4.99$, $Pr = 0.03$, $p < 0.05$). Mediante la prueba de comparaciones múltiples se ha objetivado que el tiempo de uso del AG es inferior en pacientes operados, tanto en el grupo de MD ($Q = 9.69$, $p < 0.01$) como en el de TD ($Q = 6.43$, $p < 0.01$).

La dosis total, debido a que depende de la duración, se ha visto influida por la presencia de cirugía ($F = 3.81$, $Pr = 0.049$, $p < 0.05$); no se ha demostrado sea diferente entre los grupos de MD y TD ($F = 0$, $Pr = 1$, n.s.).

**3. ESTADISTICA BASICA Y ANALISIS DE LOS NIVELES
SERICOS DE GENTAMICINA**

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>Primer valle sérico de GN (mg/l)</i>	<i>Pico sérico de GN (mg/l)</i>	<i>Valle sérico de GN en fase estacionaria</i>
<i>Global</i>	54	0.65 +/- 0.47 (0.52 - 0.78)	5.46 +/- 2.59 (4.71 - 6.21)	0.88 +/- 0.67 (0.63 - 1.14)
<i>Monodosis (MD)</i>	27	0.56 +/- 0.44 (0.39 - 0.72)	7.42 +/- 2.22 (6.35 - 8.12)	0.86 +/- 0.76 (0.46 - 1.26)
<i>Triple dosis (TD)</i>	27	0.74 +/- 0.49 (0.55 - 0.93)	3.52 +/- 1.22 (3.01 - 4.03)	0.91 +/- 0.59 (0.58 - 1.23)
<i>No operados</i>	26	0.62 +/- 0.50 (0.42 - 0.82)	5.76 +/- 2.64 (4.62 - 6.89)	1.00 +/- 0.65 (0.67 - 1.33)
<i>Operados</i>	28	0.68 +/- 0.44 (0.51 - 0.84)	5.21 +/- 2.58 (4.19 - 6.22)	0.73 +/- 0.69 (0.24 - 1.13)
<i>MD no operados</i>	13	0.58 +/- 0.55 (0.28 - 0.88)	7.58 +/- 2.16 (6.31 - 8.86)	1.02 +/- 0.80 (0.49 - 1.54)
<i>TD no operados</i>	13	0.66 +/- 0.47 (0.39 - 0.93)	3.75 +/- 1.35 (2.91 - 4.59)	0.98 +/- 0.42 (0.64 - 1.31)
<i>MD operados</i>	14	0.53 +/- 0.31 (0.36 - 0.70)	6.94 +/- 2.31 (5.68 - 8.20)	0.58 +/- 0.68 (0.01 - 1.17)
<i>TD operados</i>	14	0.82 +/- 0.50 (0.55 - 1.08)	3.32 +/- 1.12 (2.69 - 3.96)	0.84 +/- 0.73 (0.30 - 1.39)

Los valores representados son la media +/- la desviación estándar del nivel sérico de GN. Entre paréntesis se expresa el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

El estudio comparativo entre los distintos niveles séricos de GN muestra los siguientes resultados:

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>Comparación entre valle y pico de GN</i>	<i>Comparación entre primer valle y en estado estacionario</i>
<i>Global</i>	<i>54</i>	<i>T= 12.21. Pr= 0. (p <0.001)</i>	<i>T= 1.14. Pr= 0.26. (n.s.)</i>
<i>Monodosis (MD)</i>	<i>27</i>	<i>T= 14.78. Pr= 0. (p <0.001)</i>	<i>T= 0.71. Pr= 0.48. (n.s.)</i>
<i>Triple dosis (TD)</i>	<i>27</i>	<i>T= 13.92. Pr= 3.6x10⁻¹². (p <0.001)</i>	<i>T= 1.02. Pr= 0.32. (n.s.)</i>
<i>No operados</i>	<i>26</i>	<i>T= 8.82. Pr= 2.5x10⁻⁸. (p <0.001)</i>	<i>T= 1.42. Pr= 0.17. (n.s.)</i>
<i>Operados</i>	<i>28</i>	<i>T= 8.38. Pr= 1.9x10⁻⁸. (p <0.001)</i>	<i>T= 0.06. Pr= 0.94. (n.s.)</i>
<i>MD no operados</i>	<i>13</i>	<i>T= 10.50 Pr= 1.0x10⁻⁶. (p <0.001)</i>	<i>T= 0.87. Pr= 0.40. (n.s.)</i>
<i>TD no operados</i>	<i>13</i>	<i>T= 9.32. Pr= 6.4x10⁻⁶. (p <0.001)</i>	<i>T= 1.69. Pr= 0.15. (n.s.)</i>
<i>MD operados</i>	<i>14</i>	<i>T= 10.05 Pr= 7.0x10⁻⁷. (p <0.001)</i>	<i>T= 0.15. Pr= 0.88. (n.s.)</i>
<i>TD operados</i>	<i>14</i>	<i>T= 10.90 Pr= 3.1x10⁻⁷. (p <0.001)</i>	<i>T= 0.06. Pr= 0.94. (n.s.)</i>

Mediante la comparación de medias mediante la t de Student se comprueba obviamente que el pico es obviamente diferente al valle sérico de GN (p <0.001).

No se ha demostrado en nuestro estudio que el primer valle de GN sea diferente al propio del estado estacionario.

Nuestro estudio no ha logrado demostrar influencia significativa del régimen de administración, MD vs. TD, sobre el primer valle sérico ($F= 1.93$, $Pr= 0.17$, n.s.) o el propio del estadio estacionario ($F= 0.18$, $Pr= 1$, n.s.) de GN. Tampoco se ha objetivado diferente valle inicial ($F= 0.14$, $Pr= 1$, n.s.) o durante la fase estable ($F=1.09$, $Pr= 0.30$, n.s.) entre los pacientes sometidos o no a cirugía.

El pico de GN es distinto de modo significativo entre los individuos que recibieron MD y TD ($F= 46.95$, $Pr= 2.4 \times 10^{-8}$, $p < 0.001$). Sin embargo no se ha constatado que este parámetro esté afectado por la presencia de cirugía ($F= 0.95$, $Pr= 1$, n.s.). Mediante la prueba de Neuman-Keuls se ha confirmado que se alcanzan picos séricos estadísticamente diferentes entre los dos regímenes de administración del AG en pacientes operados ($Q= 23.50$, $p < 0.01$) así como en aquellos no sometidos a tratamiento quirúrgico ($Q= 22.82$, $p < 0.01$).

Mediante el test de la t de Student para datos apareados se ha comprobado que existe diferencia significativa en el valor alcanzado por el valle durante el estado estacionario entre los pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad –definida como creatinina máxima superior a 1.5 mg/dl- y aquellos que no la presentaron ($T= 2.69$, $Pr= 0.012$, $p < 0.05$). Esta relación no se ha comprobado en nuestro estudio con el valor del primer valle ($T= 0.79$, $Pr= 0.43$, n.s.) ni del pico ($T= 0.92$, $Pr= 0.35$, n.s.) de GN.

No se ha comprobado diferencia significativa en el valor alcanzado por valle o pico de GN y valor dintel o umbral de NAG o (FE)BMG que pudiera definir nefrotoxicidad.

4. TABLA SOBRE FOCO PRIMARIO DE INFECCION

<u>Indicación de tratamiento</u>	<u>Número de pacientes en cada régimen</u>	
	<u>MD</u>	<u>TD</u>
<i>Infección abdominal</i>		
<i>Peritonitis secundaria</i>	13	11
<i>Absceso abdominopélvico</i>	3	4
<i>Colangitis</i>	1	2
<i>Diverticulitis</i>	1	1
<i>Absceso hepático</i>	0	1
<i>Peritonitis espontánea</i>	1	0
<i>Infección no abdominal</i>		
<i>Infección de tejidos blandos</i>	4	1
<i>Absceso pulmonar</i>	3	1
<i>Neumonía aspirativa</i>	2	1
<i>Bacteriemia primaria</i>	2	3
<i>Endocarditis</i>	1	1
<i>Mediastinitis</i>	0	2

Cinco pacientes presentan más de un foco de infección: dos enfermos asocian diverticulitis y peritonitis, uno absceso pélvico y subcutáneo, otro bacteriemia y peritonitis y el último colecistitis y absceso subcutáneo.

La peritonitis secundaria fue confirmada durante el acto quirúrgico y estuvo asociada a: (a) carcinoma de colon y recto perforado o fistulizado en 9 y 1 pacientes respectivamente, (b) apendicitis gangrenosa en 6 individuos, (c) úlcus gástrico o duodenal en 3 sujetos, (d) diverticulitis en 2 enfermos y (e) perforación traumática de intestino grueso en 1 persona.

Fueron sometidos a cirugía los 24 pacientes con peritonitis secundaria, 1 absceso abdominopélvico en cada grupo de administración y los 2 pacientes con mediastinitis -uno tras esofagocoloplastia y otro tras cirugía cardíaca.

Los abscesos abdominopélvicos no intervenidos han sido resueltos con antibioticoterapia +/- drenaje guiado por CT.

5. MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS

Los gérmenes identificados y el número de aislamientos se describen en la siguiente tabla.

<u>Microorganismos</u>	<u>Número de cepas identificadas</u>
<i>BG (-): Escherichia coli</i>	7
<i>Enterobacter sp.</i>	3
<i>Klebsiella sp.</i>	2
<i>Serratia sp.</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>CG (+): Streptococo no D</i>	4
<i>Enterococo</i>	3
<i>Estafilococo aureus</i>	2
<i>Anaerobios: Peptostreptococo</i>	5
<i>Bacteroides fragilis</i>	2

Se identifican gérmenes en 18 pacientes (33.3% sobre el total). Excluyendo aquellos enfermos cuya indicación fue la peritonitis hallada durante el acto quirúrgico el porcentaje asciende al 60%.

En algunos pacientes se aíslan varios microorganismos. En la siguiente tabla se subdividen por patología.

<u>Indicación de GN y número de pacientes con aislamiento (+)</u>	<u>Gérmes identificados (número de aislamientos positivos)</u>
Absceso abdominopélvico (5/7)	E.Coli (2), Enterobacter (2), Serratia (1), Peptostreptococo (3) y Bacteroides (1).
Absceso hepático (1/1)	E.Coli, Streptococo sp., Peptostreptococo.
Peritonitis bact. espontánea (1/1)	E.Coli
Infección de tej.blandos (3/5) (1),	E.Coli (1), Klebsiella (1), Enterobacter Streptococo sp. (2), Estafilococo aureus (1) y Peptostreptococo (1).
Absceso pulmonar (1/4)	Streptococo sp.(1) y Peptostreptococo (1).
Endocarditis (2/2)	Enterococo (2).
Bacteriemia (4/5)	E.Coli (2), Enterococo (1) y Klebsiella (1).
Mediastinitis (1/2)	Stafilococo aureus.

6.ANTIBIOTICOTERAPIA ASOCIADA A GENTAMICINA

Los antibióticos utilizados y asociados a GN se exponen en la tabla siguiente:

<u>Antibióticos</u>	<u>Número de pacientes en que se usó</u>	
	<u>MD</u>	<u>TD</u>
Ampicilina	11	12
Cefalosporina 3ª gener.	1	2
Cloxacilina	1	3
Metronidazol	13	16
Clindamicina	6	4
Vancomicina	1	1

Algunos pacientes asocian más de un antibiótico.

7. EVOLUCION CLINICA

Aunque no fue objetivo del estudio se valoró la evolución clínica en el grupo de pacientes. Y así se definió como:

-Evolución favorable cuando reúne dos o más criterios: (a) desaparición de síntomas o signos de infección, (b) disminución de la temperatura máxima 2°C o (c) normalización del recuento leucocitario.

-Evolución desfavorable cuando no cumplen al menos dos criterios o el paciente fallece por infección.

-Evolución no valorable: cuando hubiera violación del protocolo, no es posible el seguimiento clínico del paciente o se confirma que el síndrome febril no es de causa infecciosa.

<u>Evolución clínica</u>	<u>Número de pacientes (%)</u>		<u>Significación</u>
	<u>MD</u>	<u>TD</u>	
Favorable	24 (72.7%)	23 (67.6%)	N.S.
Desfavorable	3 (9.9%)	4 (11.7%)	N.S.
No valorable	6 (18.2%)	7 (20.6%)	N.S.

Los pacientes con evolución invalorable no fueron considerados en el análisis estadístico de nefrotoxicidad.

8. COMPORTAMIENTO DE LA CREATININA CON GN

8A. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA CREATININA

Grupo	Tamaño	Creatinina basal (mg/dl)	Creatinina máxima (mg/dl)	Δ Creatinina (mg/dl)
Global	54	1.06 +/- 0.18 (1.01 - 1.11)	1.26 +/- 0.18 (1.21 - 1.31)	0.19 +/- 0.19 (0.13 - 0.24)
Monodosis (MD)	27	1.08 +/- 0.18 (1.01 - 1.15)	1.25 +/- 0.18 (1.18 - 1.33)	0.17 +/- 0.19 (0.10 - 0.24)
Triple dosis (TD)	27	1.05 +/- 0.18 (0.98 - 1.11)	1.27 +/- 0.19 (1.20 - 1.34)	0.20 +/- 0.20 (0.13 - 0.28)
No operados	26	1.09 +/- 0.18 (1.02 - 1.16)	1.30 +/- 0.19 (1.22 - 1.37)	0.19 +/- 0.22 (0.11 - 0.28)
Operados	28	1.04 +/- 0.18 (0.97 - 1.11)	1.23 +/- 0.18 (1.16 - 1.29)	0.18 +/- 0.17 (0.12 - 0.25)
MD no operados	13	1.10 +/- 0.20 (0.99 - 1.21)	1.27 +/- 0.19 (1.16 - 1.38)	0.16 +/- 0.22 (0.04 - 0.27)
TD no operados	13	1.08 +/- 0.16 (0.99 - 1.17)	1.33 +/- 0.19 (1.22 - 1.43)	0.23 +/- 0.22 (0.11 - 0.35)
MD operados	14	1.06 +/- 0.17 (0.97 - 1.15)	1.24 +/- 0.18 (1.14 - 1.34)	0.18 +/- 0.17 (0.09 - 0.27)
TD operados	14	1.02 +/- 0.19 (0.92 - 1.12)	1.22 +/- 0.17 (1.12 - 1.31)	0.18 +/- 0.19 (0.08 - 0.28)
Control no operados	10	1.00 +/- 0.17 (0.91 - 1.12)	1.25 +/- 0.15 (1.16 - 1.39)	0.20 +/- 0.15 (0.09 - 0.25)
Control operados	10	1.10 +/- 0.20 (0.95 - 1.19)	1.30 +/- 0.19 (1.20 - 1.41)	0.20 +/- 0.18 (0.08 - 0.24)

Los valores representados expresan la media +/- la desviación estándar. Entre paréntesis se reproduce el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

8B. ESTADISTICA DESCRIPTIVA DEL INCREMENTO DE CREATININA

Grupo	Tamaño	Pacientes con Crea pico >1.5 mg/dl	Días en alcanzar nefrotoxicidad	Pacientes con Δ Crea >0.4 mg/dl	Pacientes con Δ Crea >0.5 mg/dl	Pacientes con Δ Crea >1/3 valor basal	Pacientes con Δ Crea >50% valor basal
Global	54	8 (14.8 %)	6.2 +/- 3.4 (4.1 - 8.3)	12 (22.2 %)	3 (5.5 %)	17 (31.4 %)	3 (5.5 %)
MD	27	4 (14.8 %)	7.0 +/- 3.2 (4.2 - 9.7)	6 (22.2 %)	0	8 (29.6 %)	0
TD	27	4 (14.8 %)	5.4 +/- 3.8 (2.0 - 8,8)	6 (22.2 %)	3 (11.1%)	9 (33.3 %)	3 (11.1%)
No operados	26	5 (19.2 %)	7.0 +/- 3.8 (3.9 - 10.0)	7 (26.9 %)	3 (11.1%)	9 (34.6 %)	3 (11.1%)
Operados	28	3 (10.7 %)	5.1 +/- 2.8 (2.2 - 7.7)	5 (17.8 %)	0	7 (25.0 %)	0
MD no operados	13	3 (23.0 %)	7.6 +/- 3.0 (4.2 - 11.1)	4 (30.7 %)	0	4 (30.7 %)	0
TD no operados	13	2 (15.3 %)	6.3 +/- 5.0 (0.6 - 12.0)	3 (23.0 %)	3 (23.0%)	5 (38.4 %)	3 (23.0%)
MD operados	14	1 (7.1 %)	6.0 +/- 4.2 (0.2 - 11.8)	2 (14.3 %)	0	4 (28.5 %)	0
TD operados	14	2 (14.2%)	4.0 +/- 1.1 (2.0 - 5.9)	3 (21.4 %)	0	4 (28.5 %)	0

En la tabla previa se representa el número de individuos (y porcentaje) que presentan signos de nefrotoxicidad, de acuerdo a los criterios utilizados por otros autores: Smith y col. (Δ Creatinina >0.4 mg/dl), Hou y col. (Δ Creatinina >0.5 mg/dl), Kumin y col. (Δ Creatinina $>1/3$ del valor basal) y Lerner y col. (Δ Creatinina $>50\%$ del valor basal).

8C.COMPARACION DE MEDIAS DE CREATININA BASAL VERSUS CREATININA PICO

<u>Grupo</u>	<u>Tamaño</u>	<u>Probabilidad y significación</u>	
Global	54	$t= 7.48$	$Pr= 7.62 \times 10^{-10}$. ($p <0.001$)
Monodosis (MD)	27	$t= 4.98$	$Pr= 4.30 \times 10^{-5}$. ($p <0.001$)
Triple dosis (TD)	27	$t= 5.63$	$Pr= 6.30 \times 10^{-6}$. ($p <0.001$)
No operados	26	$t= 4.63$	$Pr= 9.40 \times 10^{-5}$. ($p <0.001$)
Operados	28	$t= 6.18$	$Pr= 1.31 \times 10^{-6}$. ($p <0.001$)
MD no operados	13	$t= 2.67$	$Pr= 0.02$ ($p <0.05$)
TD no operados	13	$t= 3.84$	$Pr= 0.002$ ($p <0.01$)
MD operados	14	$t= 4.59$	$Pr= 5.02 \times 10^{-4}$. ($p <0.001$)
TD operados	14	$t= 4.09$	$Pr= 0.0012$ ($p <0.01$)

En todos los grupos la creatinina se incrementa de modo significativo durante el tratamiento con GN, estudiado mediante el test de medias para datos apareados.

8D. ESTADISTICA ANALITICA DE LA CREATININA

A continuación se muestran los valores que presenta la creatinina a lo largo del tratamiento en cada uno de los grupos. En cada tabla se representará la media +/- desviación estándar (entre paréntesis el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$).

8D_r EN EL GLOBAL DE PACIENTES:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
1.1 +/- 0.2 (1.0-1.1)	1.1 +/- 0.2 (1.0-1.1)	1.1 +/- 0.2 (1.0-1.2)	1.1 +/- 0.2 (1.1-1.2)	1.1 +/- 0.2 (1.1-1.2)	1.2 +/- 0.2 (1.1-1.3)	1.3 +/- 0.2 (1.2-1.4)	1.2 +/- 0.1 (1.1-1.3)

El régimen de dosificación de GN no influye sobre el valor máximo de creatinina ($F = 0.09$, $Pr = 1$, n.s.) ni el incremento sobre el valor basal ($F = 0.44$, $Pr = 1$, n.s.). Tampoco la presencia de cirugía en nuestro estudio afecta de modo significativo el valor pico ($F = 1.85$, $Pr = 0.17$, n.s.) ni el aumento sobre el valor pretratamiento ($F = 0.04$, $Pr = 1$, n.s.) de creatinina.

El día de aparición de nefrotoxicidad (definida como creatinina máxima > 1.5 mg/dl) no es diferente estadísticamente entre pacientes que recibieron MD frente TD ($F = 0.44$, $Pr = 1$, n.s.), ni entre pacientes sometidos o no a cirugía ($F = 0.64$, $Pr = 1$, n.s.).

8D₂ PACIENTES OPERADOS VERSUS NO OPERADOS:

En los 26 pacientes no sometidos a cirugía el valor de creatinina a lo largo del tratamiento con GN fue:

<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 11</i>	<i>Día 13</i>
<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.3)</i>	<i>1.2±0.2</i> <i>(1.1-1.3)</i>	<i>1.3±0.2</i> <i>(1.2-1.4)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.3)</i>

En los 28 pacientes sometidos a cirugía la creatinina presentó los siguientes valores:

<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 11</i>
<i>1.0 ± 0.2</i> <i>(0.9 - 1.1)</i>	<i>1.1 ± 0.2</i> <i>(1.0 - 1.1)</i>	<i>1.1 ± 0.2</i> <i>(1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 ± 0.2</i> <i>(1.1 - 1.2)</i>	<i>1.1 ± 0.2</i> <i>(1.1 - 1.2)</i>	<i>1.2 ± 0.2</i> <i>(1.1 - 1.3)</i>	<i>1.2 ± 0.2</i> <i>(1.1 - 1.3)</i>

*En el estudio comparativo de ambos grupos no se ha demostrado diferencia significativa en el valor máximo ($F= 1.85$, $Pr= 0.17$, *n.s.*) ni en el incremento de creatinina sobre el valor basal ($F= 0.03$, $Pr= 1$, *n.s.*). El día en que aparece nefrotoxicidad tampoco resulta distinto ($F= 0.64$, $Pr= 1$, *n.s.*).*

8D₃ MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS:

En los 27 pacientes que recibieron MD la creatinina presentó los valores:

<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 11</i>	<i>Día 13</i>
<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.1)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.3±0.2</i> <i>(1.2-1.4)</i>	<i>1.2±0.2</i> <i>(1.1-1.4)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.3)</i>

En los 27 individuos que recibieron TD los valores de creatinina fueron:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>	<i>Dia 13</i>
<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.1)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.2±0.2</i> <i>(1.1-1.3)</i>	<i>1.3±0.2</i> <i>(1.1-1.5)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.2)</i>

En el estudio comparativo de ambos grupos no se ha demostrado diferencia significativa entre ambos en el valor máximo ($F= 0.09$, $Pr= 1$, n.s.) o en el incremento de creatinina sobre el valor basal ($F= 0.44$, $Pr= 1$, n.s.). Tampoco se ha demostrado que sea diferente el día en que aparece la nefrotoxicidad ($F= 0.44$, $Pr= 1$, n.s.).

8D, INTERACCION ENTRE REGIMEN DE GENTAMICINA Y PRESENCIA DE CIRUGIA:

En los 13 pacientes que recibieron MD y no fueron sometidos a cirugía la creatinina alcanzó los siguientes valores:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>	<i>Dia 13</i>
<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.2±0.2</i> <i>(1.1-1.3)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.2±0.3</i> <i>(0.9-1.3)</i>	<i>1.3±0.2</i> <i>(1.1-1.4)</i>	<i>1.3±0.2</i> <i>(1.1-1.4)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.3)</i>

En los 13 sujetos que recibieron TD y no fueron operados el valor de la creatinina fue:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>	<i>Dia 13</i>
<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.2)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.1</i> <i>(1.1-1.2)</i>	<i>1.1±0.2</i> <i>(1.0-1.3)</i>	<i>1.2±0.2</i> <i>(1.0-1.4)</i>	<i>1.4±0.3</i> <i>(1.2-1.7)</i>	<i>1.2±0.1</i> <i>(1.1-1.2)</i>

La creatinina en los 14 enfermos operados que recibieron MD fue:

<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 11</i>
<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.2 +/- 0.1 (1.1 - 1.4)</i>	<i>1.2 +/- 0.2 (1.0 - 1.4)</i>

La creatinina en los 14 sujetos operados que recibieron TD fue:

<i>Día 0</i>	<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 5</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 9</i>	<i>Día 11</i>
<i>1.0 +/- 0.2 (0.9 - 1.1)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (0.9 - 1.1)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.3)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (1.0 - 1.2)</i>	<i>1.1 +/- 0.2 (0.9 - 1.3)</i>	<i>1.2 +/- 0.1 (1.0 - 1.4)</i>

*No se ha demostrado que el valor máximo de creatinina ($F= 0.66$, $Pr= 1$, *n.s.*) o su incremento sobre el valor basal ($F= 0.46$, $Pr= 1$, *n.s.*) sea diferente entre los cuatro subgrupos, así como el día de aparición de nefrotoxicidad ($F= 0.01$, $Pr= 1$, *n.s.*).*

9. COMPORTAMIENTO DE LA FENa CON GENTAMICINA

9A. ESTADISTICA DESCRIPTIVA DE LA FENa.

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>FENa basal</i>	<i>FENa pico</i>	<i>Días en alcanzar FENa pico</i>
<i>Global</i>	54	0.64 +/- 0.68 (0.46 - 0.83)	2.94 +/- 2.13 (2.37 - 3.51)	4.59 +/- 2.91 (3.81 - 5.37)
<i>Monodosis (MD)</i>	27	0.67 +/- 0.79 (0.37 - 0.97)	3.25 +/- 2.44 (2.32 - 4.17)	4.48 +/- 3.10 (3.31 - 5.65)
<i>Triple dosis (TD)</i>	27	0.62 +/- 0.56 (0.41 - 0.83)	2.64 +/- 1.76 (1.97 - 3.30)	4.70 +/- 2.75 (3.66 - 5.74)
<i>No operados</i>	26	0.71 +/- 0.84 (0.39 - 1.03)	2.49 +/- 1.91 (1.75 - 3.23)	5.61 +/- 3.07 (4.43 - 6.79)
<i>Operados</i>	28	0.58 +/- 0.50 (0.40 - 0.77)	3.36 +/- 2.27 (2.52 - 4.20)	3.64 +/- 2.43 (2.74 - 4.54)
<i>MD no operados</i>	13	0.85 +/- 1.02 (0.30 - 1.41)	2.16 +/- 1.59 (1.29 - 3.02)	5.61 +/- 3.66 (3.62 - 7.60)
<i>TD no operados</i>	13	0.57 +/- 0.62 (0.23 - 0.91)	2.82 +/- 2.21 (1.62 - 4.03)	5.61 +/- 2.50 (4.25 - 6.97)
<i>MD operados</i>	14	0.50 +/- 0.49 (0.24 - 0.76)	4.26 +/- 2.70 (2.84 - 5.68)	3.42 +/- 2.10 (2.32 - 4.53)
<i>TD operados</i>	14	0.67 +/- 0.51 (0.40 - 0.94)	2.46 +/- 1.28 (1.79 - 3.14)	3.85 +/- 2.79 (2.39 - 5.32)
<i>Control no operados</i>	10	0.71 +/- 0.80 (0.20 - 0.98)	1.37 +/- 1.12 (1.10 - 2.10)	-----
<i>Control operados</i>	10	0.65 +/- 0.42 (0.31 - 0.80)	1.87 +/- 1.10 (1.20 - 2.35)	-----

Los valores expresados son la media +/- desviación estándar del parámetro. Entre paréntesis se encuentra el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$.

FENa pico en el grupo tratado es diferente de modo significativo al del grupo control ($p < 0.001$), no así el valor basal.

9B. ESTADISTICA DESCRIPTIVA DEL INCREMENTO DE FENa

Utilizando los cocientes: $(FENa \text{ pico} - FENa \text{ basal})/FENa \text{ pico}$ -como expresión de tubulotoxicidad inducida por la GN- y $(FENa \text{ pico} - FENa \text{ dia5})/FENa \text{ pico}$ -como la capacidad de recuperación de la disfunción tubular tras la cirugía y la administración de AG- se han obtenido los siguientes resultados:

Grupo	Tamaño	$(FENa \text{ pico} - FENa \text{ basal})$ FENa pico	$(FENa \text{ pico} - FENa \text{ dia 5})$ FENa pico
Global	54	0.71 +/- 0.32 (0.63 - 0.80)	0.14 +/- 0.51 (0.00 - 0.27)
Monodosis(MD)	27	0.68 +/- 0.42 (0.52 - 0.84)	0.23 +/- 0.47 (0.05 - 0.41)
Tripledosis(TD)	27	0.75 +/- 0.16 (0.68 - 0.81)	0.04 +/- 0.55 (-0.16 - 0.25)
No operados	26	0.65 +/- 0.40 (0.50 - 0.81)	0.00 +/- 0.51 (-0.20 - 0.20)
Operados	28	0.77 +/- 0.21 (0.69 - 0.84)	0.26 +/- 0.49 (0.08 - 0.44)
MD no operado	13	0.52 +/- 0.52 (0.23 - 0.80)	0.11 +/- 0.54 (-0.18 - 0.41)
TD no operado	13	0.79 +/- 0.15 (0.71 - 0.87)	0.12 +/- 0.47 (-0.18 - 0.34)
MD operado	14	0.83 +/- 0.23 (0.71 - 0.95)	0.34 +/- 0.38 (0.14 - 0.54)
TD operado	14	0.71 +/- 0.17 (0.62 - 0.80)	0.18 +/- 0.58 (0.12 - 0.49)

9C. COMPARACION DE FENa BASAL VERSUS FENa PICO

Grupo	Tamaño	<u>Probabilidad y significación</u>	
Global	54	$t= 8.23$	$Pr= 4.72 \times 10^{-11}$. ($p < 0.001$)
Monodosis	27	$t= 5.45$	$Pr= 1.02 \times 10^{-5}$. ($p < 0.001$)
Triple dosis	27	$t= 6.80$	$Pr= 3.18 \times 10^{-7}$. ($p < 0.001$)
No operados	26	$t= 5.35$	$Pr= 1.40 \times 10^{-5}$. ($p < 0.001$)
Operados	28	$t= 6.51$	$Pr= 5.52 \times 10^{-7}$. ($p < 0.001$)
MD no oper.	13	$t= 3.29$	$Pr= 0.006$. ($p < 0.01$)
TD no oper.	13	$t= 4.37$	$Pr= 8.90 \times 10^{-4}$. ($p < 0.001$)
MD operado	14	$t= 5.29$	$Pr= 1.40 \times 10^{-4}$. ($p < 0.001$)
TD operado	14	$t= 5.58$	$Pr= 8.81 \times 10^{-5}$. ($p < 0.001$)

9D. ESTADISTICA ANALITICA DE FENa

9D_r EN EL GLOBAL DE PACIENTES:

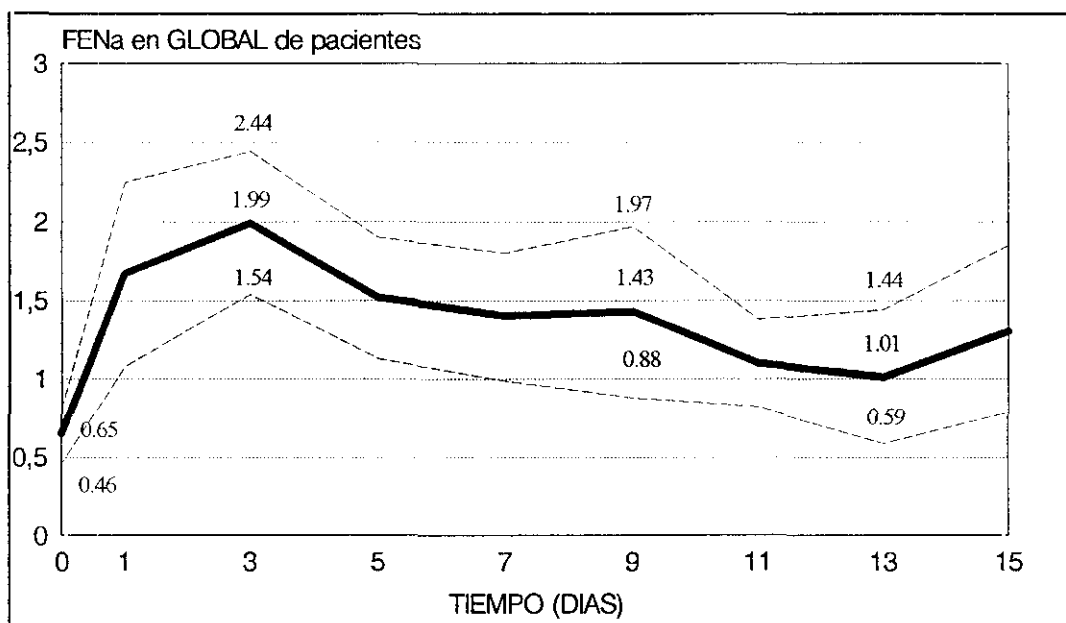


Gráfico 1. Se representa la curva temporal de la Fracción excrecional de Na (FENa) en el grupo global de pacientes

Los valores de FENa obtenidos en el global de pacientes son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
0.6 / 0.6	1.6 / 1.9	2.0 / 1.6	1.5 / 1.4	1.4 / 1.4	1.4 / 1.4	1.1 / 0.5	1.0 / 0.6	1.3 / 0.8
0.5 - 0.8	1.1 - 2.2	1.5 - 2.4	1.1 - 1.9	1.0 - 1.8	0.9 - 2.0	0.8 - 1.4	0.6 - 1.4	0.9 - 1.9

Se representa el valor medio / desviación estándar, y debajo de ellos el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Nuestro trabajo no ha demostrado que el valor máximo de FENa esté afectado por el tipo de régimen de administración de GN ($F = 1.03$, $Pr = 0.31$, n.s.) ni por la presencia de cirugía ($F = 2.48$, $Pr = 0.12$, n.s.). Sin embargo, la interacción de ambas variables sí se ha observado que afecte a este parámetro de modo significativo ($F = 4.96$, $Pr = 0.030$, $p < 0.05$).

Resultados paralelos se obtienen sobre el cociente (FENa pico-FENa basal)/FENa pico en nuestro estudio: ausencia de influencia demostrable del régimen de GN ($F= 0.83$, $Pr= 1$, n.s.) o de la presencia de cirugía ($F= 1.88$, $Pr= 0.17$, n.s.), pero sí de la interacción de ambos parámetros ($F= 5.47$, $Pr= 0.023$, $p < 0.05$).

Sobre el parámetro que valora el modo de recuperación de una excreción normal de Na tras la injuria tubular -(FENa pico-FENa dia5)/FENa pico- no se ha demostrado que sea diferente según el tipo de dosificación, MD vs. TD ($F= 1.95$, $Pr= 0.16$, n.s.), pero sí se ha comprobado que la cirugía lo afecta ($F= 3.76$, $Pr= 0.05$).

El día de aparición del valor máximo de la FENa está influido por la cirugía ($F= 6.63$, $Pr= 0.013$, $p < 0.05$), pero no por el régimen de GN ($F= 0.07$, $Pr= 1$, n.s.).

Solamente durante el primer día de tratamiento se comprueba incremento significativo de la FENa ($t= 4.05$, $Pr= 2 \times 10^{-4}$, $p < 0.001$).

9D₂ PACIENTES OPERADOS VERSUS NO OPERADOS:

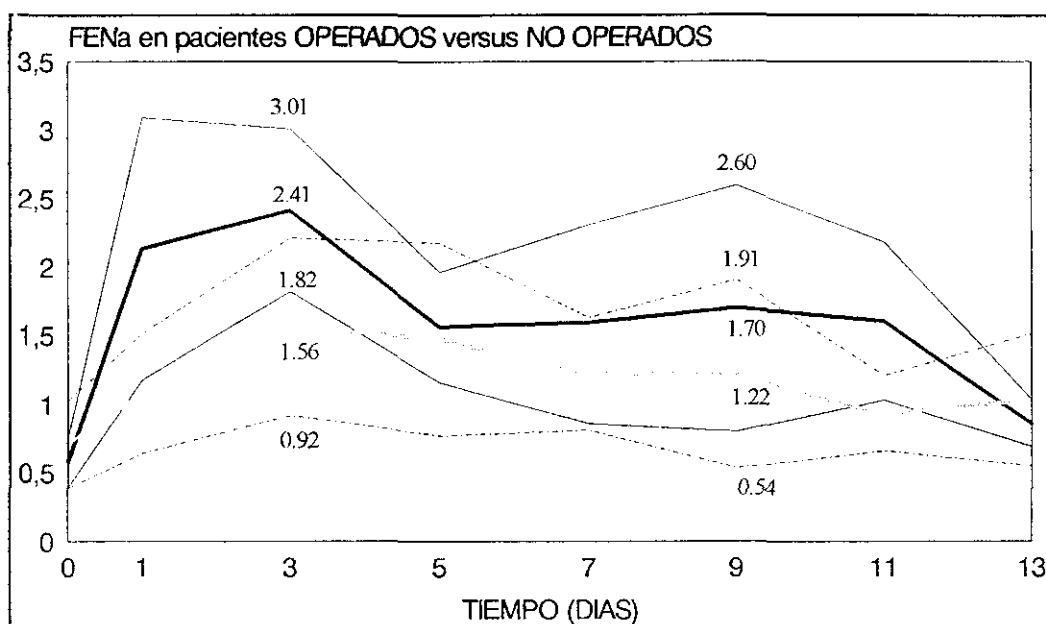


Gráfico 2. Representa el comportamiento temporal de la FENa en pacientes operados (línea negra) y no operados (línea gris) y sus intervalos de confianza (líneas finas continua y discontinua respectivamente)

Los valores de la FENa en el subgrupo de pacientes no operados fue:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.7+/-0.8	1.1+/-1.0	1.5+/-1.7	1.5+/-1.8	1.2+/-1.0	1.2+/-1.4	0.9+/-0.5	1.0+/-0.7
(0.4-1.0)	(0.6-1.5)	(0.9-2.2)	(0.8-2.2)	(0.8-1.6)	(0.5-1.9)	(0.7-1.2)	(0.5-1.5)

Los valores de la FENa en el subgrupo de pacientes operados fue:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.6+/-0.5	2.1+/-2.4	2.4+/-1.5	1.6+/-1.1	1.6+/-1.8	1.7+/-1.6	1.6+/-0.6	0.9+/-0.2
(0.4-0.8)	(1.2-3.1)	(1.8-3.0)	(1.2-1.9)	(0.9-2.3)	(0.8-2.6)	(1.0-2.2)	(0.7-1.0)

Se representan la media +/- desviación estándar; entre paréntesis el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

El valor basal de la FENa no es diferente entre pacientes operados o no ($F=0.45$, $Pr=1$, n.s.). Tampoco nuestro estudio demuestra diferencia significativa durante el primer día de tratamiento ($F=2.87$, $Pr=0.09$, $p<0.1$), pero sí se observa en el tercer día ($F=4.63$, $Pr=0.036$, n.s.). Mediante la prueba de comparaciones múltiples se constata que resulta distinto entre MD operados y no intervenidos ($Q=16.61$, $p<0.01$), pero no se demuestra para el contraste de TD ($Q<3.83$, n.s.).

No se ha demostrado que entre ambos grupos sea diferente el valor máximo de FENa ($F=2.48$, $Pr=0.12$, n.s.) o del ratio (FENa pico-FENa basal)/FENa pico ($F=1.88$, $Pr=0.17$, n.s.).

El momento de máxima natriuresis es anterior en pacientes operados que en no operados ($F=6.63$, $Pr=0.013$, $p<0.05$), tanto en el grupo de MD ($Q=10.48$, $p<0.01$) como en el de TD ($Q=8.43$, $p<0.01$).

La capacidad de normalización de la excreción de Na valorada mediante el cociente (FENa pico-FENa día5)/FENa pico es diferente de modo casi significativo entre individuos intervenidos y no operados ($F=3.76$, $Pr=0.058$, $p<0.1$), tanto en pacientes que recibieron MD ($Q=6.06$, $p<0.01$) como en los de TD ($Q=8.0$, $p<0.01$).

Durante el primer día se produce incremento significativo de la FENa, tanto en pacientes operados ($t=3.39$, $Pr=0.002$, $p<0.01$) como en no sometidos a cirugía ($t=3.31$, $Pr=0.003$, $p<0.01$).

9D_p MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS:

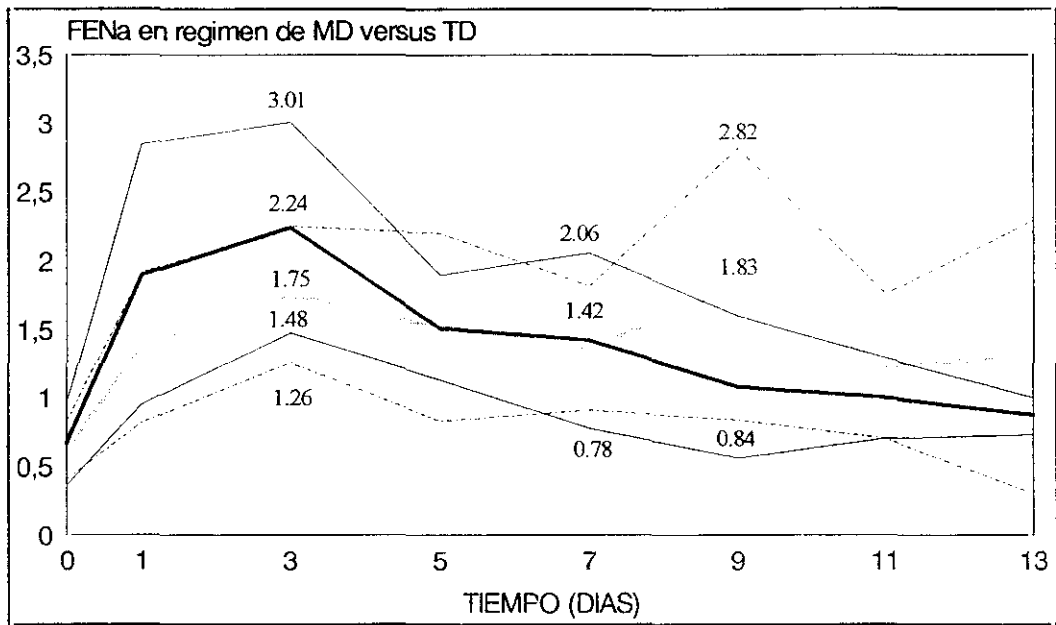


Gráfico 3. Representa el comportamiento temporal de la FENa en pacientes que recibieron monodosis -MD (línea negra)- y triple dosis -TD (línea gris)- así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas finas continua y discontinua respectivamente).

Los valores de FENa en los 27 pacientes que recibieron MD son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.6+/-0.8 (0.4-1.0)	1.9+/-2.4 (0.9-2.8)	2.2+/-1.9 (1.5-3.0)	1.5+/-1.0 (1.1-1.9)	1.4+/-1.7 (0.8-2.1)	1.1+/-1.0 (0.6-1.6)	1.0+/-0.5 (0.7-1.3)	0.9+/-0.2 (0.7-1.0)

Los valores de FENa en los 27 pacientes que recibieron TD son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.6+/-0.6 (0.4-0.8)	1.4+/-1.2 (0.8-1.9)	1.8+/-1.3 (1.3-2.3)	1.5+/-1.8 (0.8-2.2)	1.4+/-1.1 (0.9-1.8)	1.8+/-1.8 (0.8-2.8)	1.2+/-0.7 (0.7-1.8)	1.3+/-1.2 (0.3-2.3)

En nuestro trabajo los valores basales de FENa no son diferentes entre ambos regímenes de dosificación ($F= 0.09$, $Pr= 1$, n.s.). En ningún momento del tratamiento los valores resultan diferentes entre los grupos que recibieron MD y TD ($F= 0.69$, $Pr= 1$, n.s.).

No se ha demostrado que el modo de administración del AG induzca distintos valores máximos de FENa ($F= 1.03$, $Pr= 0.31$, n.s.) o del ratio (FENa pico-FENa basal)/FENa pico ($F= 0.83$, $Pr= 1$, n.s.).

El día de aparición de la máxima natriuresis tampoco resulta distinto entre los enfermos receptores de MD y TD ($F= 0.07$, $Pr= 1$, n.s.).

La capacidad de recuperación de una excreción urinaria de Na normal no resulta distinta en nuestro estudio entre ambos regímenes de GN ($F= 1.95$, $Pr= 0.16$, n.s.).

Tanto en los pacientes con MD como con TD se producen incrementos significativos de la natriuresis durante el primer día de tratamiento con GN ($F= 3.01$, $Pr= 0.006$, $p < 0.01$ en MD) ($F= 3.07$, $Pr= 0.006$, $p < 0.01$ en TD).

9D, INTERACCION ENTRE REGIMEN DE GN Y PRESENCIA DE CIRUGIA:

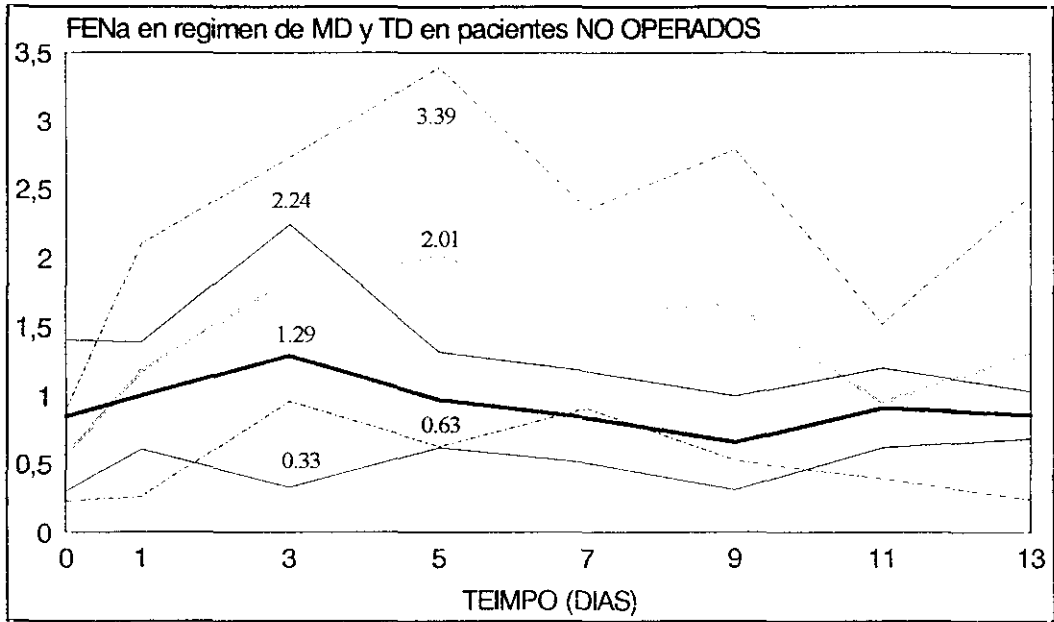


Gráfico 4. Representa el comportamiento temporal de la FENa en pacientes no operados que recibieron GN en régimen de MD (línea negra) y de TD (línea gris), así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (línea fina continua y discontinua respectivamente).

Los valores de la FENa en los 13 pacientes no operados que recibieron MD

son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.8+/-1.0	1.0+/-0.7	1.3+/-1.8	1.0+/-0.6	0.8+/-0.6	0.7+/-0.5	0.9+/-0.4	0.9+/-0.2
(0.3-1.4)	(0.6-1.4)	(0.3-2.2)	(0.6-1.3)	(0.5-1.2)	(0.3-1.0)	(0.6-1.2)	(0.7-1.0)

Los valores de la FENa en los 13 pacientes no operados que recibieron TD

son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.6+/-0.6	1.2+/-1.3	1.8+/-1.6	2.0+/-2.4	1.6+/-1.3	1.7+/-1.7	0.9+/-0.6	1.3+/-1.2
(0.2-0.9)	(0.3-2.1)	(1.0-2.7)	(0.6-3.4)	(0.9-2.3)	(0.5-2.8)	(0.4-1.5)	(0.3-2.3)

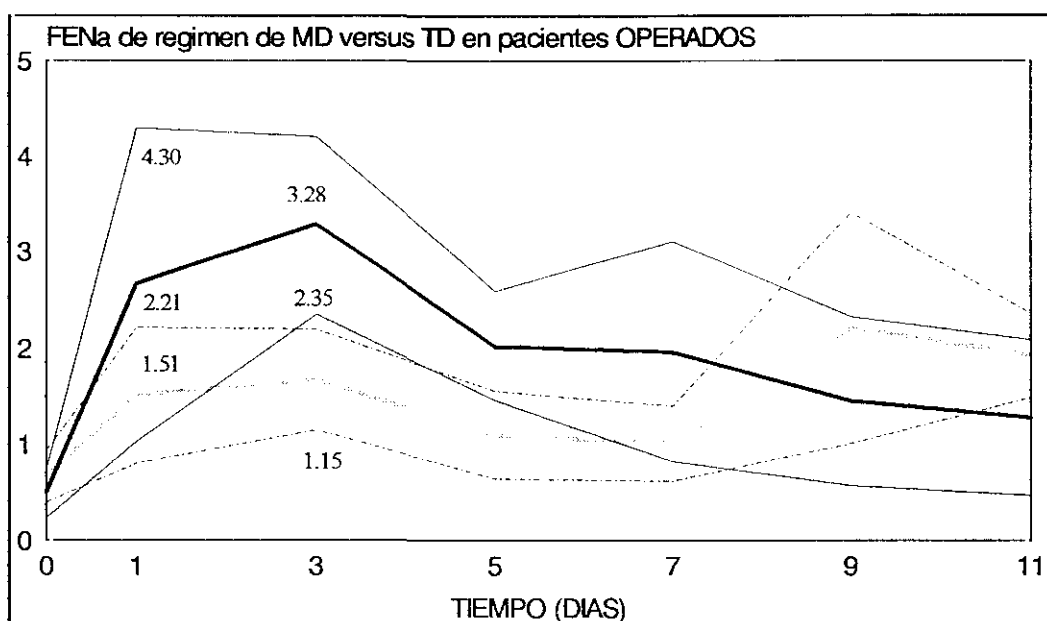


Gráfico 5. Representación temporal del comportamiento de la FENa en los pacientes operados que recibieron TD (línea negra) y MD (línea gris), así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas continua y discontinua respectivamente).

Los valores de la FENa en los 14 pacientes sometidos a cirugía que recibieron GN en régimen de TD fue:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.5 +/- 0.5 (0.2 - 0.8)	2.7 +/- 3.0 (1.0 - 4.3)	3.3 +/- 1.6 (2.3 - 4.2)	2.0 +/- 1.1 (1.5 - 2.6)	2.0 +/- 2.2 (0.8 - 3.1)	1.5 +/- 1.3 (0.6 - 2.3)	1.3 +/- 0.7 (0.3 - 2.3)

Los valores de FENa en los 14 pacientes operados que recibieron GN en régimen de MD fue:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.7 +/- 0.5 (0.4 - 0.9)	1.5 +/- 1.2 (0.8 - 2.2)	1.7 +/- 1.0 (1.1 - 2.2)	1.1 +/- 0.9 (0.6 - 1.6)	1.0 +/- 0.6 (0.6 - 1.4)	2.2 +/- 2.2 (1.0 - 3.4)	1.9 +/- 0.3 (1.5 - 2.4)

La FENa basal no resulta diferente entre MD y TD, tanto en pacientes operados como en no operados ($F= 1.49$, $Pr=0.22$ n.s.). Sin embargo a partir del tercer día se objetiva que la interacción de las variable régimen de administración del AG y la presencia o no de cirugía afecta el valor de la natriuresis ($F= 6.50$, $Pr=0.01$); mediante el test de Neuman-Keuls de comparaciones múltiples se comprueba que existe diferencia significativa en la FENa de este día entre MD y TD tanto en pacientes intervenidos ($Q= 13.6$, $p <0.01$) como no sometidos a cirugía ($Q= 4.72$, $p <0.01$). Esta significación se mantiene hasta el noveno día en nuestro estudio.

Aún cuando el régimen de dosificación sólo no ha demostrado que influya sobre el valor pico y el ratio de incremento de FENa de modo significativo, cuando interacciona con la variable cirugía si se comprueba que existe influencia tanto sobre el valor de FENa pico ($F= 4.96$, $Pr= 0.03$, $p <0.05$) como sobre el cociente (FENa pico-Fena basal)/Fena pico ($F= 5.47$, $Pr= 0.02$, $p <0.05$). Mediante comparaciones múltiples se demuestra diferencia significativa en la excreción máxima de Na entre MD y TD en pacientes operados ($Q=12.1$, $p <0.01$) y no operados ($Q=4.36$, $p <0.01$). De igual manera se observa la misma distinción en el cociente previo entre los dos regímenes de administración de GN tanto en pacientes intervenidos ($Q= 5.34$, $p <0.01$) como en no intervenidos ($Q= 4.36$, $p <0.01$).

La interacción de las dos variable no influye sobre el momento de aparición de la máxima natriuresis ($F= 0.07$, $Pr= 1$, n.s.) ni sobre la capacidad de resolución a la excreción urinaria previa ($F= 0.08$, $Pr= 1$, n.s.).

La natriuresis se incrementa de modo significativo en regimen de MD de individuos operados ($t= 2.78$, $Pr= 0.016$) y no operados ($t= 2.89$, $Pr= 0.015$), y de modo casi significativo en TD intervenidos y no intervenidos ($t= 2.14$, $Pr= 0.06$).

10. COMPORTAMIENTO DE LA BMG CON GENTAMICINA

10A. ESTADISTICA DESCRIPTIVA DE LA BMG

Grupo	Tamaño	BMG basal	FEBMG basal	BMG pico	FEBMG pico	Días BMG pico
Global	54	581+/-596 (422-740)	0.49+/-0.55 (0.34-0.64)	10483+/-10534 (7674 -13294)	8.67+/-11.20 (5.68-11.60)	3.2+/-2.9 (2.4-3.9)
Monodosis (MD)	27	494+/-552 (286-703)	0.48+/-0.57 (0.26-0.69)	7914 +/- 9409 (4364 -11463)	7.57+/-12.63 (2.81-12.33)	3.1+/-2.8 (2.0-4.2)
Triple dosis (TD)	27	668+/-636 (428-908)	0.50+/-0.54 (0.29-0.70)	13053+/-11133 (8854 -17253)	9.76+/- 9.69 (6.11-13.42)	3.2+/-3.0 (2.1-4.3)
No operados	26	430+/-655 (178-683)	0.23+/-0.27 (0.12-0.33)	9150 +/-11549 (4710 -13589)	6.25+/-9.23 (2.70- 9.80)	4.2+/-3.1 (3.0-5.4)
Operados	28	721+/-507 (533-909)	0.73+/-0.64 (0.49-0.97)	11722+/- 9540 (8188 -15255)	10.9+/-12.5 (6.31 -15.5)	2.1+/-2.2 (1.3-3.0)
MD no operados	13	343+/-504 (68 -617)	0.16+/-0.19 (0.06-0.27)	4387 +/- 5581 (1353 - 7421)	2.95+/- 3.23 (1.19 - 4.71)	3.8+/-3.0 (2.2-5.5)
TD no operados	13	518+/-790 (88 -948)	0.29+/-0.32 (0.11-0.47)	13913+/-14057 (6271 -21554)	9.55+/-11.97 (3.04-16.06)	4.6+/-3.4 (2.7-6.4)
MD operados	14	635+/-574 (334-936)	0.77+/-0.66 (0.42-1.12)	11188+/-11150 (5347 -17029)	11.8+/-16.39 (3.28 -20.44)	2.3+/-2.5 (0.9-3.7)
TD operados	14	807+/-435 (579-1035)	0.69+/-0.63 (0.63-1.03)	12255+/- 8005 (8062 -16449)	9.96+/- 7.45 (6.06-13.87)	2.0+/-2.0 (0.9-3.1)
Control no oper.	10	360+/-320 (150-570)	0.19+/-0.21 (0.13-0.25)	2200 +/- 1852 (1020 - 3380)	1.78+/- 1.92 (0.91- 2.65)	3.9+/-2.2 (2.3-5.5)
Control operado	10	702+/-470 (501-903)	0.69+/-0.60 (0.39-0.99)	4621 +/- 4021 (2023 - 7219)	3.01+/- 2.80 (1.33- 5.69)	2.9+/-7.9 (1.1-4.7)

Los valores expresados representan la media +/- la desviación estándar del parámetro. Entre paréntesis se encuentra el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$.

10B. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL INCREMENTO DE BMG

Utilizando los coeficientes (BMG pico-BMG basal)/BMG pico y (FEBMG pico-FEBMG basal)/FEBMG pico como expresión de tubulotoxicidad, y los ratios (BMG pico-BMG dia5)/BMG pico y (FEBMG pico-FEBMG dia5)/FEBMG pico como expresión de la capacidad de recuperación tras la administración de AG en presencia o no de cirugía, los valores obtenidos han sido:

Grupo	<u>BMG(pico-basal)</u> BMG pico	<u>FEBMG(pic-bas)</u> FEBMG pico	<u>BMG(pico-dia5)</u> BMG pico	<u>FEBMG(pic-di5)</u> FEBMG pico
Global	0.89 +/- 0.15 (0.85 - 0.93)	0.85 +/- 0.24 (0.78 - 0.91)	0.34 +/- 0.59 (0.18 - 0.51)	0.37 +/- 0.61 (0.20 - 0.53)
Monodosis (MD)	0.85 +/- 0.21 (0.77 - 0.93)	0.85 +/- 0.22 (0.76 - 0.93)	0.37 +/- 0.57 (0.14 - 0.59)	0.35 +/- 0.65 (0.09 - 0.60)
Triple dosis(TD)	0.93 +/- 0.05 (0.91 - 0.95)	0.85 +/- 0.25 (0.75 - 0.95)	0.32 +/- 0.62 (0.09 - 0.56)	0.39 +/- 0.58 (0.17 - 0.61)
No operados	0.87 +/- 0.21 (0.79 - 0.95)	0.81 +/- 0.31 (0.69 - 0.94)	0.15 +/- 0.59 (0.07 - 0.38)	0.21 +/- 0.65 (0.03 - 0.46)
Operados	0.91 +/- 0.06 (0.89 - 0.93)	0.88 +/- 0.11 (0.84 - 0.93)	0.54 +/- 0.53 (0.33 - 0.75)	0.53 +/- 0.53 (0.32 - 0.73)
MD no operados	0.79 +/- 0.27 (0.64 - 0.94)	0.83 +/- 0.27 (0.68 - 0.98)	0.36 +/- 0.54 (0.01 - 0.60)	0.26 +/- 0.72 (0.12 - 0.65)
TD no operados	0.95 +/- 0.05 (0.92 - 0.98)	0.80 +/- 0.35 (0.60 - 0.99)	0.06 +/- 0.61 (-0.33- 0.32)	0.16 +/- 0.60 (-0.16- 0.49)
MD operados	0.91 +/- 0.07 (0.87 - 0.95)	0.86 +/- 0.14 (0.78 - 0.95)	0.43 +/- 0.62 (0.08 - 0.72)	0.44 +/- 0.58 (0.11 - 0.77)
TD operados	0.91 +/- 0.05 (0.88 - 0.94)	0.90 +/- 0.08 (0.85 - 0.94)	0.64 +/- 0.45 (0.40 - 0.87)	0.60 +/- 0.50 (0.33 - 0.86)

Los valores expresados representan la media +/- la desviación estándar. Entre paréntesis se representa el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$.

10C.COMPARACION DE MEDIAS ENTRE (FE)BMG BASAL Y (FE)BMG PICO

Probabilidad y Significación

<u>Grupo</u>	<u>BMG Basal vs. Pico</u>	<u>FEBMG Basal vs. Pico</u>
Global	$t= 7.12$ $Pr= 2.8 \times 10^{-9}$ ($p < 0.001$)	$t= 5.50$ $Pr= 1.1 \times 10^{-6}$ ($p < 0.001$)
MD	$t= 4.18$ $Pr= 2.8 \times 10^{-4}$ ($p < 0.001$)	$t= 2.99$ $Pr= 0.0051$ ($p < 0.01$)
TD	$t= 6.01$ $Pr= 2.4 \times 10^{-6}$ ($p < 0.001$)	$t= 5.10$ $Pr= 2.5 \times 10^{-5}$ ($p < 0.001$)
No operados	$t= 3.97$ $Pr= 5.2 \times 10^{-3}$ ($p < 0.001$)	$t= 3.38$ $Pr= 0.0021$ ($p < 0.01$)
Operados	$t= 6.27$ $Pr= 1.0 \times 10^{-6}$ ($p < 0.001$)	$t= 4.41$ $Pr= 1.4 \times 10^{-4}$ ($p < 0.001$)
MD no oper.	$t= 2.63$ $Pr= 0.021$ ($p < 0.05$)	$t= 3.19$ $Pr= 0.0071$ ($p < 0.01$)
TD no oper.	$t= 3.57$ $Pr= 0.003$ ($p < 0.01$)	$t= 2.82$ $Pr= 0.015$ ($p < 0.05$)
MD operado	$t= 3.61$ $Pr= 0.003$ ($p < 0.01$)	$t= 2.58$ $Pr= 0.022$ ($p < 0.05$)
TD operado	$t= 5.58$ $Pr= 8.8 \times 10^{-5}$ ($p < 0.001$)	$t= 4.94$ $Pr= 2.6 \times 10^{-4}$ ($p < 0.001$)

La (FE) BMG pico en el grupo tratado es diferente de modo significativo respecto al grupo control ($p < 0.001$), pero no así el valor basal.

En todos los grupos se observa un incremento significativo de la BMG y de la FEBMG con el tratamiento con AG y la presencia de cirugía.

10D.ESTADISTICA ANALITICA DE LA BMG

10D_r EN EL GLOBAL DE PACIENTES

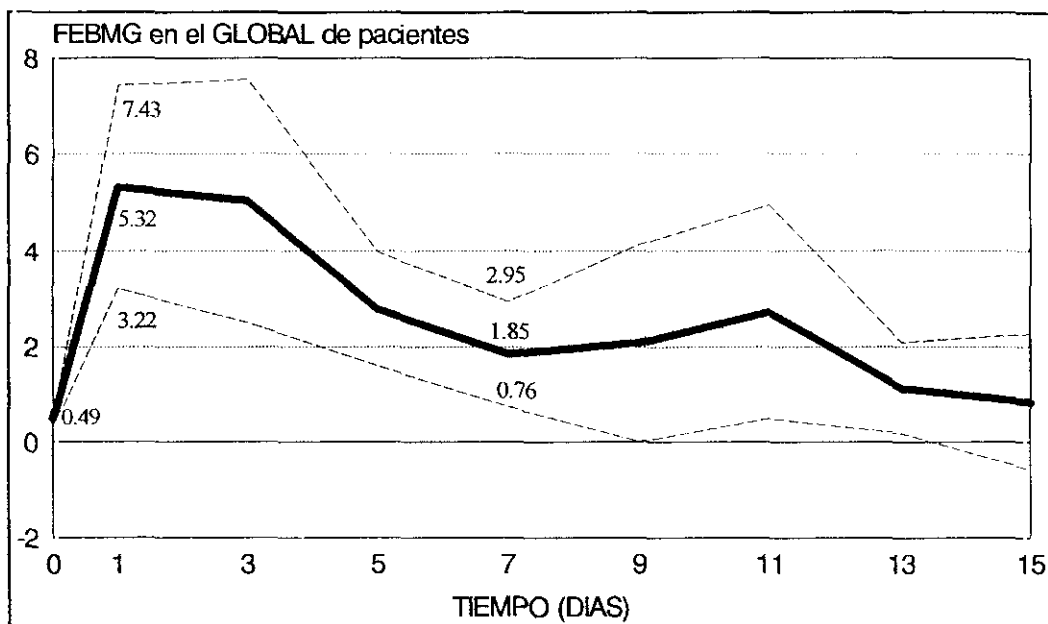


Gráfico 6. Se representa la curva temporal de la Fracción Excrecional de Beta-2 Microglobulina (FEBMG) en el global de pacientes.

Los valores obtenidos en la excreción urinaria de Beta-2 Microglobulina (BMGo expresada en $10^3 \mu\text{g/l}$) en el global de los 54 pacientes es:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
0.5 / 0.6	7.3 / 8.5	6.3 / 8.5	4.3 / 6.8	3.2 / 7.2	2.8 / 5.5	3.4 / 4.1	2.5 / 2.5	0.5 / 0.6
0.4 - 0.7	4.9 - 9.6	4.1 - 8.6	2.5 - 6.1	1.2 - 5.2	0.9 - 4.8	1.3 - 5.5	0.6 - 4.4	0.2 - 1.0

Los valores obtenidos de la Fracción Excrecional de Beta-2 Microglobulina en los 54 pacientes estudiados son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
0.5 / 0.5	5.3 / 7.6	5.0 / 9.4	2.8 / 4.4	1.8 / 3.9	2.1 / 5.9	2.7 / 4.4	1.1 / 1.3	0.8 / 1.3
0.3 - 0.6	3.2 - 7.4	2.5 - 7.5	1.6 - 4.0	0.8 - 2.9	0.0 - 4.1	0.5 - 4.9	0.2 - 2.1	-0.6 - 2.3

Se representa la media / desviación estándar, y el rango del intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Nuestro estudio muestra que el régimen de administración de GN influye de modo casi significativo sobre la excreción máxima de BMG -BMGo- ($F= 3.64$, $Pr= 0.06$, $p < 0.1$), pero cuando se corrige con la creatinuria, no influye sobre la FEBMG ($F= 0.61$, $Pr= 1$, n.s.). La presencia o no de cirugía no afecta a BMGo ($F= 0.85$, $Pr= 1$, n.s.) ni a la FEBMG máxima ($F= 2.41$, $Pr= 0.12$, n.s.) en nuestro trabajo.

Aunque el ratio de incremento de BMG -(BMG pico-BMG basal)/BMG pico se afecta casi significativamente por el modo de dosificación ($F= 3.56$, $Pr= 0.06$, n.s.) su equivalente ponderado de la FEBMG no ($F= 0.001$, $Pr= 1$, n.s.). La presencia de cirugía no afecta a ninguno de ambos ($F= 0.95$, $Pr= 1$, n.s.).

El día de aparición de la BMGo y FEBMG máxima no se ha demostrado se afecte por el tipo de administración ($F= 0.05$, $Pr= 1$, n.s. en ambos). Los enfermos operados presentan antes el valor máximo de BMGo ($F= 6.98$, $Pr= 0.011$, $p < 0.05$) y de FEBMG ($F= 3.61$, $Pr= 0.06$, $p < 0.1$).

La capacidad de regresar a una capacidad de excreción normal de BMG y FEBMG no está influenciada por la administración de MD o TD ($F= 0.12$, $Pr= 1$, n.s.). Sin embargo la presencia de intervención quirúrgica sí se ha demostrado que afecta la facultad de recuperar la eliminación previa de BMG ($F= 6.08$, $Pr= 0.017$, $p < 0.05$) y de FEBMG ($F= 3.37$, $Pr= 0.06$, $p < 0.1$).

Durante el primer día de tratamiento se observa un incremento significativo de la excreción urinaria de BMG ($t= 5.80$, $Pr= 4.44 \times 10^{-7}$, $p < 0.001$) y de FEBMG ($t= 4.61$, $Pr= 2.79 \times 10^{-6}$, $p < 0.001$).

10D₇ PACIENTES OPERADOS VERSUS NO OPERADOS

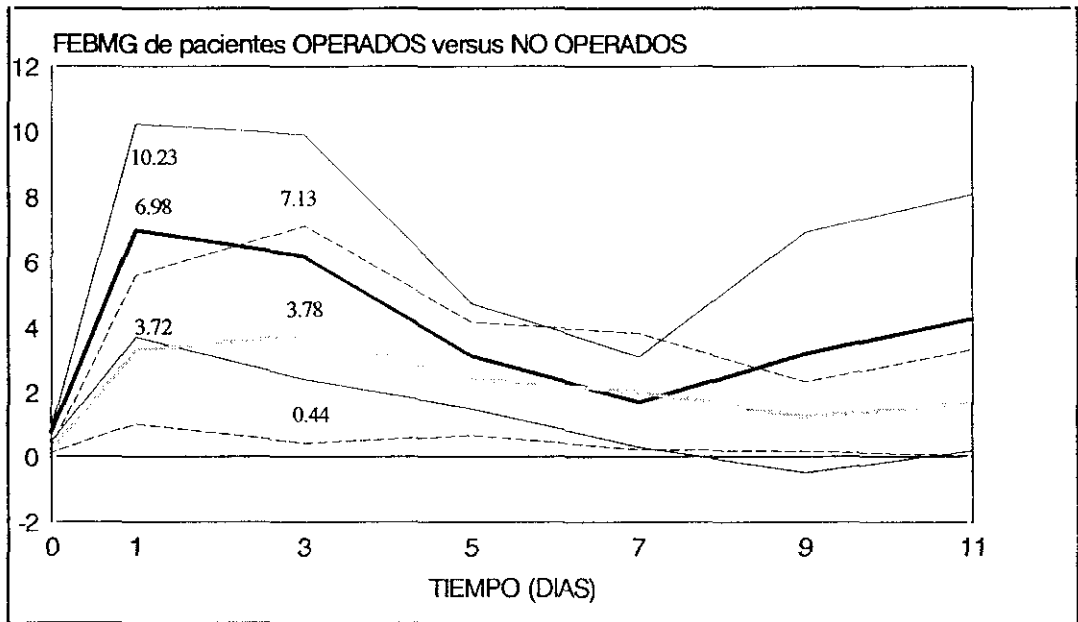


Gráfico 7. Se representa la curva temporal de la FE BMG en pacientes operados (línea negra) y no operados (línea gris), con su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas continua y discontinua respectivamente).

Los valores de la excreción urinaria de BMG en los 26 pacientes no operados recogidos en el estudio son (expresados en $10^3 \mu\text{g/l}$):

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.4 +/- 0.6 (0.2 - 0.7)	4.6 +/- 7.8 (1.5 - 7.8)	6.9 +/- 10.8 (2.7 - 11.0)	4.6 +/- 8.4 (1.5 - 7.9)	3.7 +/- 7.8 (0.4 - 7.1)	2.6 +/- 4.8 (0.2 - 4.7)	3.6 +/- 4.4 (0.8 - 6.5)

Los valores de la excreción urinaria en los 28 pacientes operados son:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.7 +/- 0.5 (0.5 - 0.9)	9.4 +/- 8.5 (6.3 - 12.6)	5.8 +/- 5.8 (3.7 - 8.0)	3.9 +/- 5.1 (2.1 - 5.8)	2.7 +/- 6.8 (0.2 - 5.3)	3.4 +/- 6.6 (0.2 - 6.9)	3.1 +/- 4.0 (0.1 - 6.3)

Los valores de la FEBMG en los 26 pacientes no operados son:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>
0.2 +/- 0.2 (0.1 - 0.3)	3.3 +/- 5.5 (1.0 - 5.6)	3.8 +/- 8.7 (0.4 - 7.1)	2.4 +/- 4.5 (0.7 - 4.2)	2.0 +/- 4.2 (0.2 - 3.8)	1.3 +/- 2.3 (0.2 - 2.3)	1.7 +/- 2.5 (0.0 - 3.3)

Los valores de la FEBMG en los 28 pacientes operados son:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>
0.8 +/- 0.6 (0.5 - 1.0)	7.0 +/- 8.8 (3.7 - 10.2)	6.2 +/- 10.1 (2.4 - 9.9)	3.1 +/- 4.3 (1.5 - 4.7)	1.7 +/- 3.7 (0.3 - 3.1)	3.2 +/- 8.7 (-0.5 - 6.9)	4.3 +/- 6.2 (0.2 - 8.2)

El valor basal de FEBMG ($F= 13.3$, $Pr= 0.0006$, $p < 0.001$) y de BMG ($F= 3.29$, $Pr= 0.065$, $p < 0.1$) resultan distintos entre pacientes operados y no operados.

La cirugía no se ha demostrado que afecte de modo significativo la excreción pico de BMG ($F= 0.85$, $Pr= 1$, n.s.), la FEBMG máxima ($F= 2.41$, $Pr= 0.12$, n.s.), ni los ratios de incremento de BMG ($F= 0.95$, $Pr= 1$, n.s.) ni de FEBMG ($F= 0.98$, $Pr= 1$, n.s.). Sin embargo el momento en que aparece ésta es más precoz en los pacientes intervenidos ($F= 6.98$, $Pr= 0.011$, $p < 0.05$).

La capacidad de normalización de una excreción normal de BMG y FEBMG es superior estadísticamente en los pacientes operados ($F= 6.08$, $Pr= 0.017$, $p < 0.05$)

Durante el primer día de tratamiento se produce incremento significativo de la BMGo en pacientes operados ($t= 5.54$, $Pr= 7.1 \times 10^{-6}$, $p < 0.001$) y no operados ($t= 2.67$, $Pr= 0.013$, $p < 0.05$), así como en la FEBMG en intervenidos ($t= 3.83$, $Pr= 6.7 \times 10^{-4}$, $p < 0.001$) y no intervenidos ($t= 2.70$, $Pr= 0.012$, $p < 0.05$). Los valores alcanzados este primer día son superiores para el régimen de TD que MD, tanto para la BMGo como la FEBMG ($F= 4.1$, $Pr= 0.047$, $p < 0.05$ para ambos).

10D₅ MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS

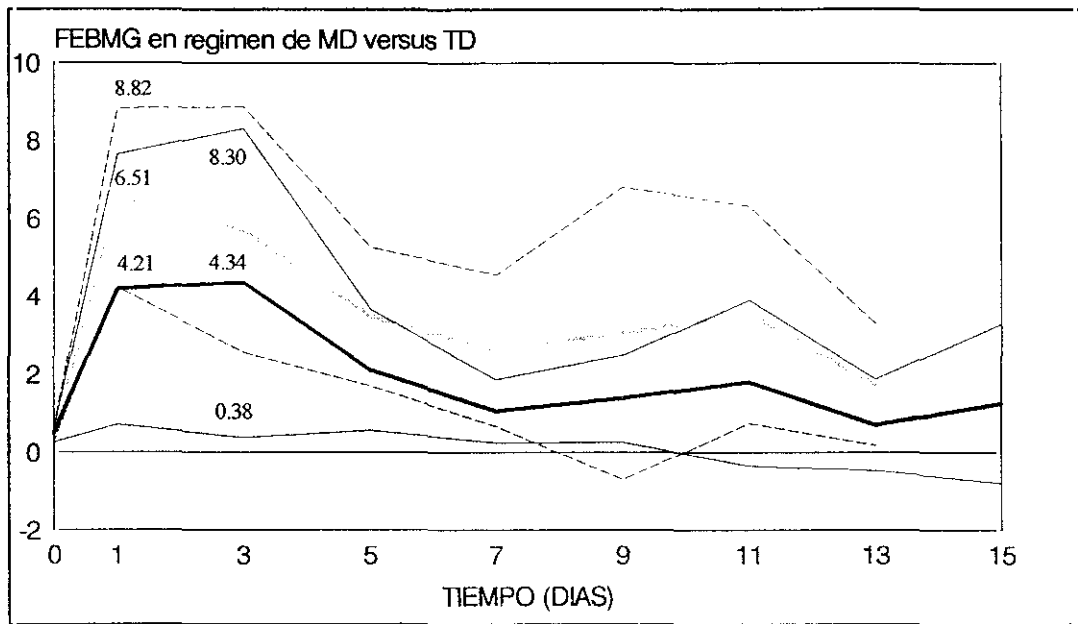


Gráfico 8. Representa el comportamiento temporal de la Fracción de Excreción de Beta-2 microglobulina (FE BMG) en pacientes que recibieron GN en régimen de monodosis -MD en línea negra- y triple dosis -TD en línea gris- así como el intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas finas continua y discontinua respectivamente).

Los valores de la BMGo encontrados en los 27 pacientes que recibieron MD (expresados en $10^3 \mu\text{g/l}$):

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
0.5 / 0.5	5.8 / 8.7	4.4 / 6.3	3.0 / 4.5	2.1 / 4.7	2.8 / 5.7	2.6 / 4.8	0.7 / 0.9	0.5 / 0.5
0.3 - 0.7	2.5 - 9.1	2.1 - 6.8	1.3 - 4.7	0.2 - 3.8	0.2 - 5.5	1.0 - 6.1	0.2 - 1.6	0.2 - 1.1

Los valores de la BMGo encontrados en los 27 pacientes que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.6 / 0.6	8.8 / 8.1	8.2 / 10.1	5.6 / 8.4	4.2 / 8.9	2.8 / 5.5	1.7 / 3.5	4.9 / 1.9
0.4 - 0.9	5.6 - 12.0	4.4 - 12.0	2.3 - 8.7	0.7 - 7.7	0.1 - 5.9	1.7 - 6.6	2.7 - 7.1

Se representa la media / desviación estándar, así como el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Los valores de la FEBMG en los 27 individuos que recibieron MD son:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>	<i>Dia 13</i>	<i>Dia 15</i>
0.5 / 0.6	4.2/9.0	4.3/10.5	2.1 / 4.1	1.0 / 2.0	1.4 / 2.4	1.8 / 2.9	0.7 / 1.2	1.3 / 1.5
0.3 - 0.7	0.7 - 7.7	0.4 - 8.3	0.6 - 3.6	0.3 - 1.8	0.3 - 2.5	-0.3 - 3.9	-0.5 - 1.9	-0.8 - 3.3

Los valores de la FEBMG en los 27 individuos que recibieron TD son:

<i>Dia 0</i>	<i>Dia 1</i>	<i>Dia 3</i>	<i>Dia 5</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 9</i>	<i>Dia 11</i>	<i>Dia 13</i>
0.5 / 0.5	6.5 / 5.9	5.7 / 8.4	3.5 / 4.7	2.6 / 5.0	3.0 / 8.7	3.5 / 5.5	1.7 / 1.4
0.3 - 0.7	4.2 - 8.8	2.5 - 8.9	1.7 - 5.2	0.7 - 4.5	-0.7 - 6.8	0.7 - 6.3	0.2 - 3.3

Entre MD y TD no son diferentes los valores basales de BMGo ($F= 1.17$, $Pr=0.28$, n.s.) ni de la FEBMG ($F= 0.03$, $Pr= 1$, n.s.)

No se ha demostrado que el régimen de administración de GN afecte significativamente al valor máximo de la FEBMG ($F= 0.61$, $Pr= 1$, n.s.) o al cociente que expresa su incremento ($F= 0.01$, $Pr= 1$, n.s.), aun cuando resulte casi significativa para la BMGo pico ($F= 3.63$, $Pr= 0.06$, n.s.) y para el ratio que mide su incremento sobre le valor basal ($F= 3.56$, $Pr= 0.069$, n.s.).

El momento en que aparece el valor máximo de (FE)BMG no está influido por el régimen de dosificación de GN ($F= 0.05$, $Pr= 1$, n.s.).

Nuestro estudio no ha demostrado que el modo de dosificación del AG afecte la capacidad de regeneración de una excreción normal de (FE)BMG ($F= 0.12$, $Pr=1$, n.s.).

Se objetiva nuevamente incremento significativo durante le primer día de tratamiento de la (FE)BMG en MD ($t=3.2$, $Pr=0.003$, $p<0.05$) y TD ($t=2.7$, $Pr=0.01$).

10D, INTERACCION ENTRE REGIMEN DE GN Y PRESENCIA DE CIRUGIA

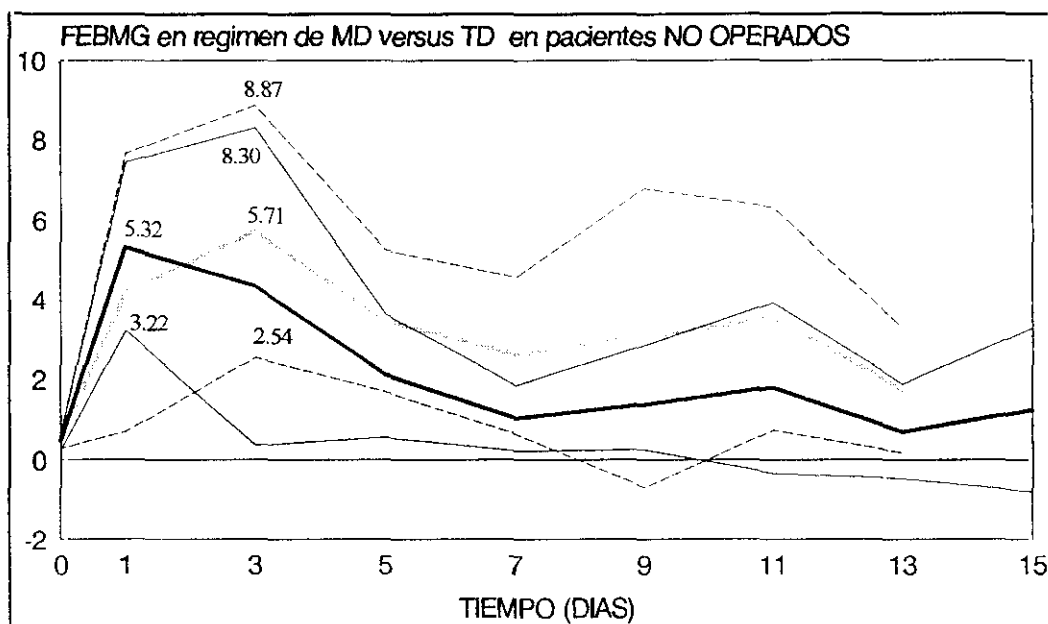


Gráfico 9. Representa la secuencia temporal de la FEBMG en los pacientes no operados que recibieron los dos regímenes de GN: MD (línea negra) y TD (línea gris), así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas finas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores de la excreción de BMGo de los 13 pacientes no operados que recibieron MD (expresado en $10^3 \mu\text{g/l}$):

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
0.3 / 0.5	2.2 / 3.1	2.6 / 4.2	2.1 / 3.8	2.1 / 4.6	3.3 / 6.6	3.5 / 5.5	0.7 / 0.9	0.5 / 0.5
0.1 - 0.6	0.5 - 4.0	0.2 - 4.9	0.0 - 4.2	0.8 - 4.9	1.0 - 7.6	1.4 - 8.3	0.2 - 1.6	0.2 - 1.1

Los valores de la BMGo de los 13 pacientes no operados que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13
0.5 / 0.5	7.3 / 10.3	11.1 / 13.6	7.2 / 10.8	5.2 / 9.9	1.6 / 1.7	3.8 / 3.2	4.9 / 1.9
0.0 - 0.9	1.1 - 13.4	3.8 - 18.5	1.3 - 13.0	0.5 - 11.2	0.5 - 2.7	0.7 - 6.9	2.7 - 7.1

Se expresan la media / desviación típica, y el rango del intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Los valores de la FEBMG en los 13 pacientes no operados que recibieron

MD:

Dia 0	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 11	Dia 13	Dia 15
0.5/0.6	5.3/7.6	4.3/10.	2.1/4.1	1.0/2.0	1.4/2.4	1.8/2.9	0.7/1.2	1.2/1.5
0.3-0.7	3.2-7.4	0.4-8.3	0.6-3.5	0.2-1.8	0.3-2.5	-0.3-3.9	-0.5-1.9	-0.8-3.3

Los valores de la FEBMG en los 13 pacientes operados que recibieron TD:

Dia 0	Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 7	Dia 9	Dia 11	Dia 13
0.5/0.5	4.2/9.0	5.7/8.4	3.5/4.7	2.6/4.9	3.0/8.7	3.5/5.5	1.7/1.4
0.3-0.7	0.7-7.6	2.5-8.9	1.7-5.2	0.6-4.5	-0.7-6.8	0.7-6.3	0.2-3.3

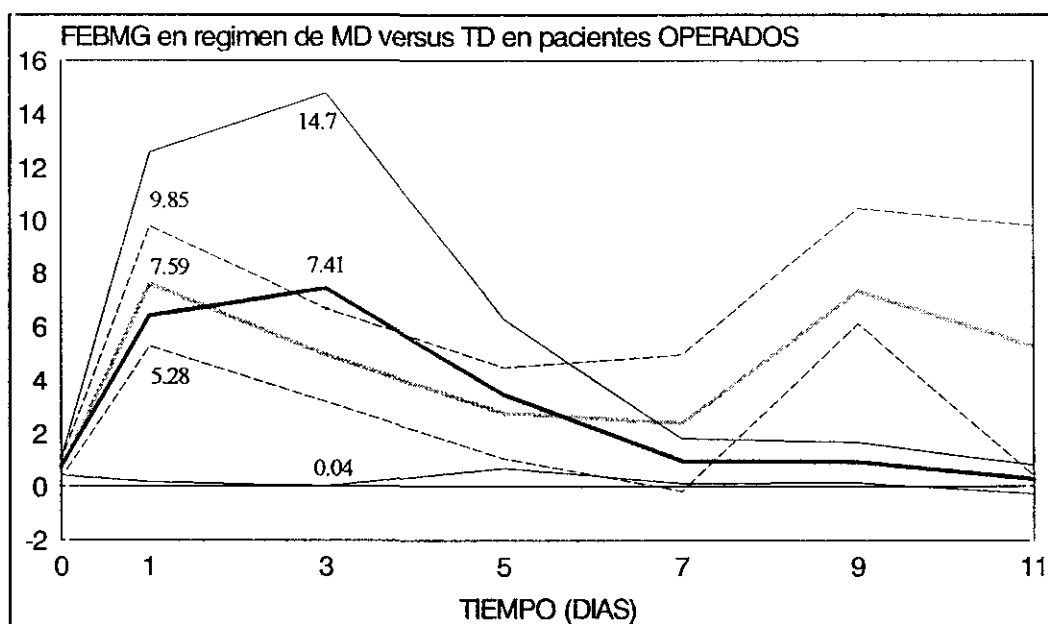


Gráfico 10. Representación temporal de la FEBMG en pacientes operados que recibieron GN en regimen de MD (línea negra) y TD (línea gris), así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas finas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores de la excreción urinaria de BMG en los 14 pacientes que recibieron MD (expresado en $10^3 \mu\text{g/l}$):

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.6 +/- 0.5 (0.3 - 0.9)	8.9 +/- 1.0 (3.2-14.4)	0.6 +/- 7.5 (2.2-10.0)	3.8 +/- 5.0 (1.1 - 6.4)	2.1 +/- 4.9 (0.5 - 4.7)	2.3 +/- 4.9 (0.9 - 5.6)	3.5 +/- 5.5 (0.3 - 8.3)

Los valores de la BMGo en los 14 pacientes operados que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.8 +/- 0.4 (0.6 - 1.0)	10.0 +/- 5.9 (6.9-13.1)	5.5 +/- 3.6 (3.6 - 7.4)	4.0 +/- 5.3 (1.2 - 6.8)	3.4 +/- 8.4 (1.0 - 7.8)	5.1 +/- 9.9 (0.5 - 1.2)	3.8 +/- 3.1 (0.7 - 6.9)

Los valores de la FEBMG en los 14 pacientes operados que recibieron MD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.8 +/- 0.7 (0.4 - 1.1)	6.4 +/- 11.4 (0.2-12.6)	7.4 +/- 14.0 (0.0-14.7)	3.5 +/- 5.3 (0.7 - 6.3)	1.0 +/- 1.5 (0.1 - 1.8)	0.9 +/- 1.2 (0.1 - 1.7)	0.3 +/- 0.3 (-0.2- 0.8)

Los valores de la FEBMG en los 14 pacientes operados que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
0.7 +/- 0.6 (0.4 - 1.0)	7.6 +/- 4.3 (5.3 - 9.8)	4.9 +/- 3.3 (3.2 - 6.7)	2.8 +/- 3.3 (1.0 - 4.5)	2.4 +/- 4.9 (-0.2- 5.0)	8.3 +/- 15.7 (6.1 - 10.2)	6.3 +/- 7.0 (0.4 - 10.0)

Los valores representados son la media +/- desviación estándar, y el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

No se ha demostrado que la BMG basal y la FEBMG basal sean diferentes entre los distintos grupos definidos por la interacción de las variables régimen de administración de GN y presencia o no de cirugía ($F= 0.53$, $Pr= 1$, n.s. para ambos). Mientras no hay diferencia significativa entre los valores de las dos variables entre los grupos MD y TD en pacientes operados ($F= 0.70$, $Pr= 1$, n.s.), sí se ha objetivado a partir del tercer día de tratamiento para BMGo ($F= 4.85$, $Pr= 0.04$, $p < 0.05$) y FEBMG ($F= 3.32$, $Pr= 0.069$, $p < 0.1$).

No se ha objetivado influencia de la interacción de las dos variables sobre la excreción máxima de BMGo ($F= 2.32$, $Pr= 0.13$, n.s.) ni sobre el valor pico de FEBMG ($F= 2.0$, $Pr= 0.16$, n.s.). No se demuestra que la interacción del régimen de GN y la presencia o no de cirugía afecte el ratio de incremento de FEBMG ($F= 0.25$, $Pr= 1$, n.s.). No existe diferencia en el día de aparición del valor máximo de excreción de BMG o FEBMG entre los distintos subgrupos de pacientes ($F= 0.44$, $Pr= 1$, n.s.).

Tampoco se ha demostrado influencia de la interacción de las dos variables sobre la capacidad de regresar a una excreción normal de BMGo tras la injuria quirúrgica y tóxica ($F= 0.57$, $Pr= 1$, n.s.).

En todos los grupos se objetiva un incremento (casi) significativo de la (FE)BMG durante el primer día de tratamiento: en MD no operados ($t= 2.04$, $Pr=0.06$, $p < 0.1$), en TD no intervenidos ($t= 2.23$, $Pr= 0.049$, $p < 0.05$), en MD operados ($t= 2.09$, $Pr= 0.06$, $p < 0.1$) y en TD intervenidos ($t= 2.23$, $Pr= 0.049$, $p < 0.05$).

11. COMPORTAMIENTO DE LA NAG CON GN

11A. ESTADISTICA BASICA DE LA NAG

<i>Grupo</i>	<i>Tamaño</i>	<i>NAG basal</i>	<i>NAG pico</i>	<i>IEE NAG</i>	<i>Tiempo hasta NAG pico</i>
<i>Global</i>	54	22.9 +/- 12.6 (19.6 - 26.3)	112.1 +/- 71.2 (93.1 - 131.1)	72.1 +/- 55.3 (57.4 - 86.9)	4.9 +/- 2.6 (4.2 - 5.6)
<i>Monodosis (MD)</i>	27	23.1 +/- 11.3 (18.8 - 27.4)	98.0 +/- 60.2 (75.3 - 120.7)	58.5 +/- 44.4 (41.8 - 75.3)	4.9 +/- 2.0 (4.1 - 5.7)
<i>Triple dosis (TD)</i>	27	22.8 +/- 14.0 (17.5 - 28.1)	126.1 +/- 79.4 (96.1 - 156.0)	85.7 +/- 62.2 (62.2 - 109.2)	4.8 +/- 3.1 (3.5 - 6.1)
<i>No operados</i>	26	25.0 +/- 13.6 (19.8 - 30.2)	108.5 +/- 79.5 (77.9 - 139.1)	65.8 +/- 61.2 (42.2 - 89.3)	5.5 +/- 2.7 (4.4 - 6.5)
<i>Operados</i>	28	21.1 +/- 11.6 (16.8 - 25.3)	115.3 +/- 63.8 (91.7 - 138.7)	78.0 +/- 49.5 (59.7 - 96.4)	4.2 +/- 2.3 (3.3 - 5.1)
<i>MD no operados</i>	13	21.5 +/- 11.2 (15.4 - 27.6)	72.3 +/- 50.6 (44.8 - 99.8)	37.1 +/- 36.3 (17.3 - 56.8)	5.1 +/- 2.1 (4.0 - 6.3)
<i>TD no operados</i>	13	28.4 +/- 15.2 (20.2 - 36.7)	144.7 +/- 88.1 (96.8 - 192.6)	96.5 +/- 68.6 (57.2 - 131.8)	5.8 +/- 3.3 (4.0 - 7.6)
<i>MD operados</i>	14	24.5 +/- 11.6 (18.5 - 30.6)	121.9 +/- 60.0 (90.5 - 153.3)	78.4 +/- 42.8 (56.0 - 100.8)	4.7 +/- 2.0 (3.6 - 5.8)
<i>TD operados</i>	14	17.6 +/- 10.8 (11.9 - 23.3)	108.7 +/- 69.0 (72.6 - 144.9)	77.6 +/- 57.0 (47.8 - 107.5)	3.6 +/- 2.5 (2.0 - 5.1)
<i>Control no operados</i>	10	15.2 +/- 12.7 (10.5 - 19.9)	35.6 +/- 28.3 (21.1 - 50.2)	26.6 +/- 22.5 (17.2 - 36.1)	4.4 +/- 3.3 (2.9 - 5.8)
<i>Control operados</i>	10	18.3 +/- 12.3 (12.0 - 24.5)	61.2 +/- 35.3 (47.3 - 75.2)	31.2 +/- 21.3 (22.5 - 39.9)	3.3 +/- 3.3 (2.0 - 4.6)

Los valores de la tabla expresan la media +/- desviación estándar. Entre paréntesis se representa el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$.

Los valores de NAG basal y NAG pico vienen expresados en UI / g. de creatinina.

El tiempo se expresa en días.

11B. COMPARACION DE MEDIAS DE NAG BASAL VERSUS NAG PICO

<u>Grupo</u>	<u>Tamaño</u>	<u>Probabilidad y significación</u>	
Global	54	$t= 10.39.$	$Pr= 0 \quad (p < 0.001)$
Monodosis	27	$t= 7.46.$	$Pr= 6.33 \times 10^{-8} \quad (p < 0.001)$
Triple dosis	27	$t= 7.62.$	$Pr= 4.32 \times 10^{-8} \quad (p < 0.001)$
No operados	26	$t= 6.07$	$Pr= 2.40 \times 10^{-6} \quad (p < 0.001)$
Operados	28	$t= 8.84$	$Pr= 1.83 \times 10^{-9} \quad (p < 0.001)$
MD no oper.	13	$t= 4.24$	$Pr= 0.0011 \quad (p < 0.01)$
TD no oper.	13	$t= 5.38$	$Pr= 1.63 \times 10^{-5} \quad (p < 0.001)$
MD operados	14	$t= 7.15$	$Pr= 7.47 \times 10^{-6} \quad (p < 0.001)$
TD operados	14	$t= 5.40$	$Pr= 1.20 \times 10^{-5} \quad (p < 0.001)$

La NAG pico en el grupo tratado es diferente de modo significativo respecto al del grupo control ($p < 0.001$).

En todos los subgrupos de pacientes se objetiva un incremento significativo de la excreción urinaria de NAG durante el tratamiento con GN.

11C. ESTADISTICA ANALITICA DE LA NAG

11C₇ EN EL GLOBAL DE PACIENTES

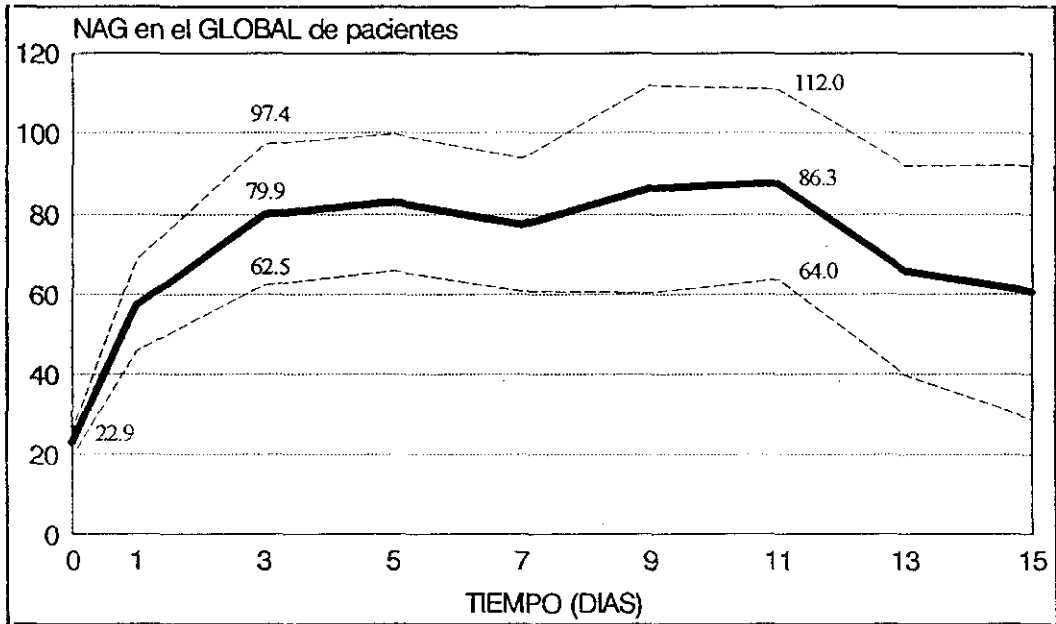


Gráfico 11. Representa el comportamiento temporal de la NAG (línea gruesa) en el global de pacientes, así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas discontinuas).

Los valores de la NAG en el global de los 54 pacientes fueron (expresados en UI / g. de creatinina):

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
23 / 12	57 / 37	80 / 61	83 / 60	77 / 52	86 / 72	87 / 51	66 / 42	61 / 40
19 - 26	46 - 69	62 - 97	66 - 99	61 - 94	60 - 112	64 - 111	39 - 92	29 - 93

No se ha demostrado que el valor máximo de la excreción urinaria de NAG esté influida por el tipo régimen de dosificación ($F = 2.54$, $Pr = 0.096$, $p < 0.1$) ni por la presencia o no de cirugía ($F = 0.13$, $Pr = 1$, n.s.). Sin embargo sí se demuestra que

la interacción de ambos factores influye sobre la NAG pico ($F= 5.31$, $Pr= 0.025$, $p<0.05$). El día en que aparece el valor máximo de NAG en orina en el global de pacientes no resulta distinto entre pacientes que recibieron MD frente TD ($F= 0.11$, $Pr= 1$, ns.s), pero sí resulta casi significativo entre aquellos que fueron sometidos a cirugía y los que no ($F= 3.25$, $Pr= 0.077$, $p <0.1$).

Se ha comprobado influencia casi significativa del modo de administración del AG ($F= 3.90$, $Pr= 0.053$, $p <0.1$), pero no así de la presencia de cirugía sobre el índice de incremento de la excreción urinaria de NAG, IEENAG ($F= 0.73$, $Pr= 1$, n.s.).

Durante el primer día de tratamiento se produce un incremento significativo de la NAG ($F= 6.60$, $Pr= 8.52 \times 10^{-8}$, $p <0.001$), que se mantiene hasta el tercer día ($F= 3.47$, $Pr= 0.0013$, $p <0.01$).

11C₇ PACIENTES OPERADOS VERSUS NO OPERADOS

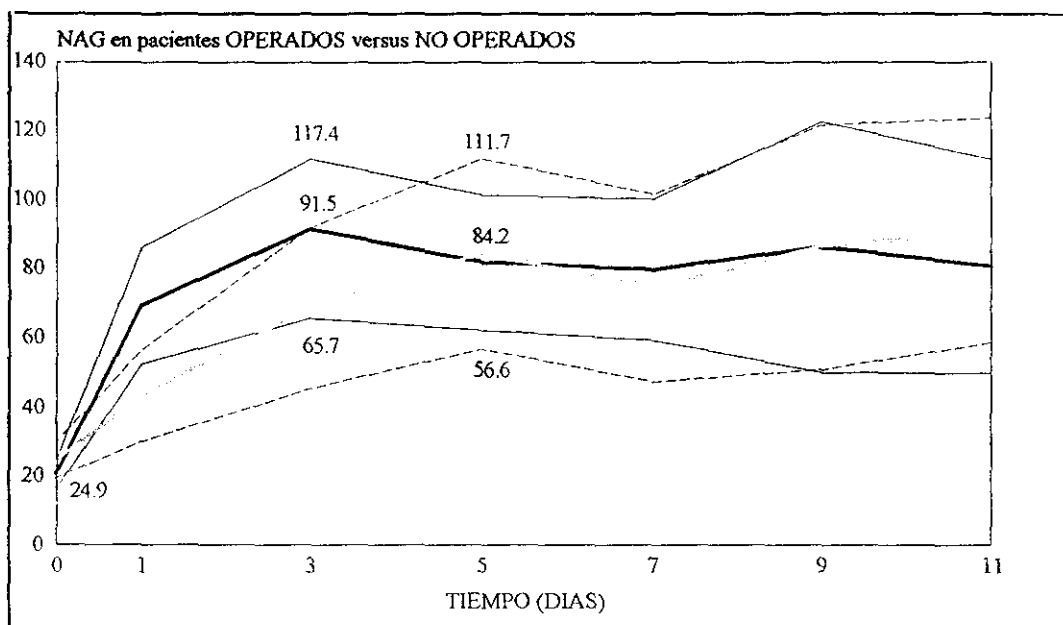


Gráfico 12. Representa la curva temporal de la excreción urinaria de la NAG en pacientes operados (línea negra) versus no operados (línea gris), así como su intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas finas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores de la NAG en los 26 pacientes (expresados en UI de NAG/gramos de creatinina) no operados fueron:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
25 +/- 14 (20 - 30)	43 +/- 28 (30 - 57)	69 +/- 58 (46 - 92)	84 +/- 70 (56 - 112)	75 +/- 58 (48 - 101)	86 +/- 79 (51 - 121)	91 +/- 58 (58 - 123)

Los valores de la NAG en los 28 pacientes operados fueron:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
21 +/- 12 (17 - 25)	69 +/- 39 (53 - 86)	92 +/- 63 (66 - 117)	82 +/- 49 (62 - 101)	80 +/- 48 (59 - 100)	86 +/- 61 (50 - 122)	81 +/- 38 (50 - 111)

Los valores representan el valor medio +/- desviación estándar de la NAG en cada grupo, así como el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Nuestro estudio no ha demostrado que los pacientes operados presenten un valor máximo de NAG diferente al de los individuos no intervenido ($F= 0.13$, $Pr=1$, n.s.). Tampoco influye de modo significativo sobre el parámetro IEENAG ($F= 0.73$, $Pr= 1$, n.s.).

El día en que aparece el valor máximo de excreción urinaria de NAG se afecta de modo casi significativo por la presencia de cirugía ($F= 3.26$, $Pr= 0.077$, $p < 0.1$). Mediante comparaciones múltiples se muestra en nuestra serie que la diferencia en el momento de aparición de la eliminación urinaria máxima de NAG se encuentra en el régimen de TD entre pacientes operados y no operados ($Q= 10.1$, $p < 0.01$), pero no así en el régimen de MD ($p > 0.05$) donde no se ha podido demostrar distinta aparición cronológica del pico máximo de NAG.

Se produce incremento significativo en la excreción de NAG durante el primer día de tratamiento tanto en pacientes operados ($t= 6.56$, $Pr= 2.12 \times 10^{-6}$, $p < 0.001$) como en no operados ($t= 3.24$, $Pr= 0.004$, $p < 0.01$). Entre el primer y tercer día el incremento observado en la enzimuria sólo es significativo en aquellos ($t= 3.06$, $Pr= 0.006$, $p < 0.01$), pero no en éstos ($t= 1.71$, $Pr= 0.10$, n.s.).

IIC, MONODOSIS VERSUS TRIPLE DOSIS

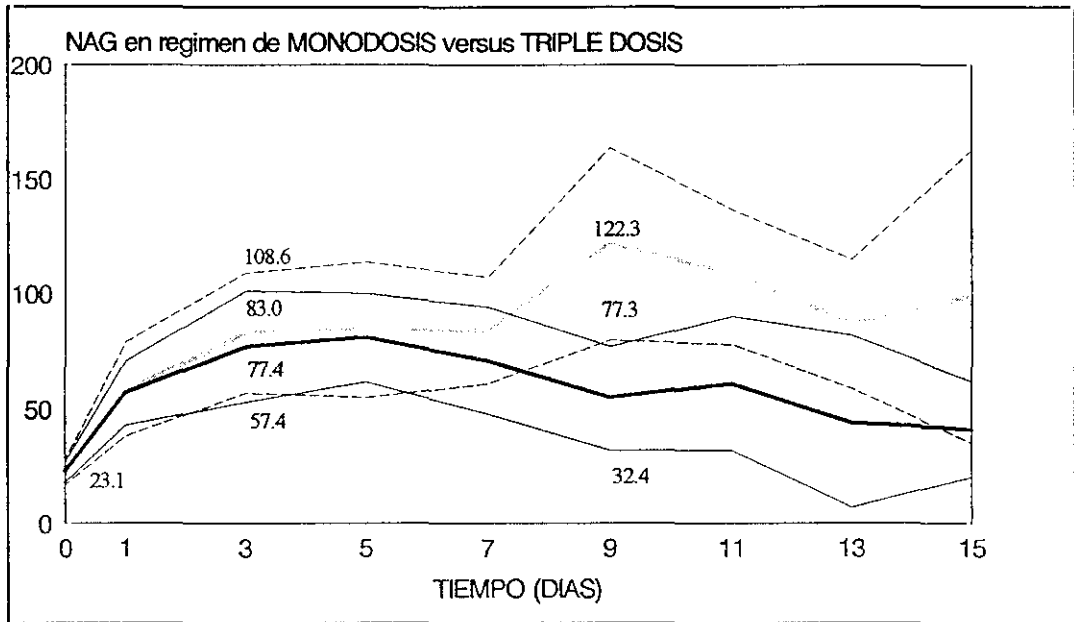


Gráfico 13. Representa la evolución temporal de la excreción de NAG en los pacientes que recibieron GN en forma de monodosis (línea negra) y triple dosis (línea gris), así como el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$ (líneas finas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores de la NAG en orina en los 27 pacientes que recibieron MD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
23 / 11	57 / 36	77 / 62	81 / 49	71 / 55	55 / 46	61 / 42	44 / 43	41 / 21
18 - 27	43 - 71	53 - 101	62 - 100	48 - 94	32 - 77	31 - 90	07 - 82	20 - 62

Los valores de la NAG urinaria en los 27 pacientes que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
23 / 14	58 / 38	83 / 61	85 / 72	84 / 50	122 / 80	109 / 49	87 / 32	99 / 45
17 - 28	38 - 78	57 - 108	56 - 114	61 - 107	80 - 164	78 - 137	59 - 115	35 - 163

Los valores representan la media / desviación estándar, así como el intervalo de confianza para $p < 0.05$.

Nuestro estudio muestra que el regimen de administración de GN, MD versus TD, influye de modo casi significativo sobre la excreción máxima de NAG ($F= 2.54$, $Pr= 0.096$, $p < 0.1$), pero sí lo hace de modo significativo sobre el índice IEENAG ($F= 3.96$, $Pr= 0.048$, $p < 0.05$). El día en que aparece la máxima enzimuria no resulta diferente entre los dos modos de administración, valorada de modo global ($F= 0.12$, $Pr= 1$, n.s.).

En nuestro estudio se produce un incremento significativo de la NAG urinaria durante el primer día de tratamiento, tanto en el régimen de MD ($t= 5.18$, $Pr= 2.6 \times 10^{-6}$, $p < 0.001$) como en el de TD ($t= 3.95$, $Pr= 0.0016$, $p < 0.01$), así como hasta el tercer día en ambos casos ($F= 2.64$, $Pr= 0.015$ y $F= 2.20$, $Pr= 0.047$ respectivamente, con $p < 0.05$).

11C, INTERACCION ENTRE REGIMEN DE GN Y PRESENCIA DE CIRUGÍA

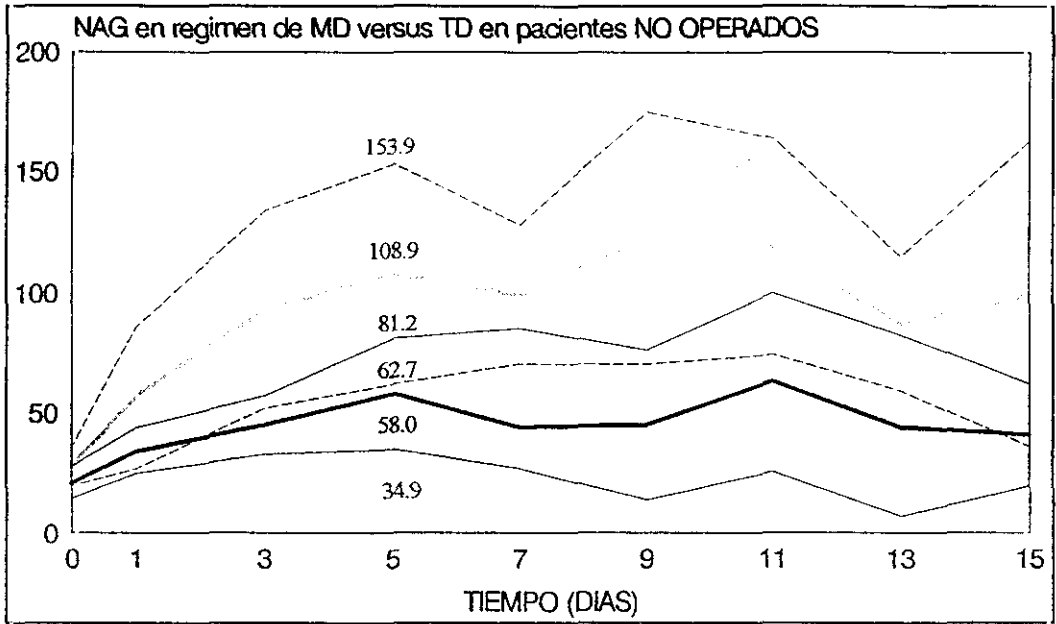


Gráfico 14. Representa la evolución temporal de la excreción de NAG en pacientes no operados que recibieron GN en régimen de monodosis (MD como línea negra) frente triple dosis (TD como línea gris), así como el intervalo de confianza para $p < 0.05$ (líneas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores alcanzados por la excreción urinaria de NAG (expresado como UI/g. de creatinina) en los 13 pacientes no operados que recibieron MD fueron:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
21 / 11	35 / 16	45 / 22	58 / 41	44 / 59	45 / 43	63 / 47	22 / 43	41 / 21
15 - 27	26 - 44	32 - 57	35 - 81	27 - 85	14 - 76	25 - 100	07 - 82	20 - 62

Los valores de NAG en los 13 individuos no operados que recibieron TD:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
28 / 15	57 / 40	93 / 73	108 / 83	99 / 47	123 / 84	119 / 57	87 / 32	99 / 45
20 - 37	27 - 86	51 - 134	62 - 253	70 - 128	70 - 175	74 - 164	59 - 115	35 - 163

Se representan el valor medio /desviación típica y el rango del intervalo de confianza para $p < 0.05$.

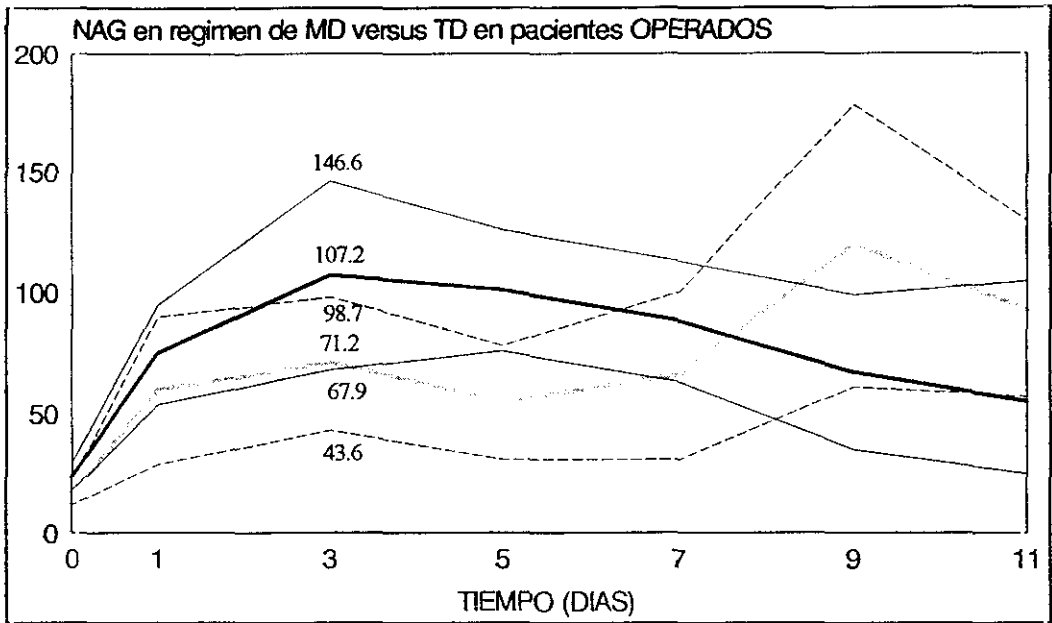


Gráfico 15. Representa la evolución temporal de la excreción de NAG en los pacientes operados que recibieron monodosis (MD en línea negra) frente triple dosis (TD en línea gris), así como el intervalo de confianza de la media para $p < 0.05$ (líneas finas continuas y discontinuas respectivamente).

Los valores de la excreción urinaria de NAG en los 14 pacientes operados que recibieron MD fue:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
24 +/- 12 (18 - 31)	74 +/- 39 (54 - 95)	107 +/- 72 (68 - 146)	101 +/- 48 (76 - 126)	88 +/- 46 (63 - 113)	67 +/- 43 (35 - 99)	55 +/- 36 (24 - 105)

Los valores de la NAG en orina en los 14 individuos operados que recibieron TD de GN:

Día 0	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11
18 +/- 11 (12 - 23)	60 +/- 40 (29 - 90)	71 +/- 44 (47 - 99)	55 +/- 38 (31 - 78)	66 +/- 49 (31 - 100)	119 +/- 80 (61 - 178)	93 +/- 37 (57 - 130)

La interacción de ambas variables influye de modo significativo sobre el valor máximo de excreción urinaria de NAG, tanto en los pacientes operados como en los no operados ($F= 5.31$, $Pr= 0.025$, $p < 0.05$). Mediante la técnica de comparaciones múltiples se comprueba que en los pacientes no sometidos a cirugía este parámetro es distinto de modo significativo entre los subgrupos que recibieron MD y TD ($Q= 14.06$, $p < 0.01$).

La interacción de las variables régimen de administración y presencia de intervención quirúrgica afecta de modo importante al índice IEENAG ($F= 4.12$, $Pr= 0.047$, $p < 0.05$). Se comprueba que en el subgrupo no operado este parámetro es diferente entre los individuos que recibieron MD y TD ($Q= 14.44$, $p < 0.01$).

El día en que aparece el máximo valor de excreción de NAG no resulta distinto entre ambos modos de dosificación de GN, tanto en el grupo intervenido como en el que no se sometió a cirugía ($F= 1.43$, $Pr= 0.23$, n.s.).

El incremento de NAG resulta significativo durante el primer día en casi todos los subgrupos: MD no operados ($t= 3.07$, $Pr= 0.012$, $p < 0.05$), MD operados ($t= 5.49$, $Pr= 10^{-5}$, $p < 0.001$), TD operados ($t= 3.39$, $Pr= 0.013$, $p < 0.05$), excepto en TD no operados ($t= 2.15$, $Pr= 0.075$, $p < 0.1$). Entre el primer y tercer día resulta significativo el incremento en los pacientes operados que recibieron MD ($t= 2.23$, $Pr= 0.045$, $p < 0.05$) y casi significativo para el subgrupo de TD ($t= 2.1$, $Pr= 0.079$, $p < 0.1$).

12. CORRELACION ENTRE VARIABLES

12A. CORRELACION ENTRE SCORE DE GRAVEDAD Y PARAMETROS DE TUBULOTOXICIDAD

12A₁. CORRELACION DE SCORE CON PARAMETROS BASALES

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Score / Crea basal	-0.05	(-0.39, 0.21)	n.s.
Score / FENa basal	-0.06	(-0.32, 0.20)	n.s.
Score / FEBMG basal	0.29	(0.03, 0.52)	p < 0.05
Score / NAG basal	0.35	(0.09, 0.50)	p < 0.05

12A₂. CORRELACION DE SCORE CON PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Score / Crea pico	-0.03	(-0.30, 0.23)	n.s.
Score / FENa pico	0.17	(-0.10, 0.41)	n.s.
Score / FEBMG pico	0.22	(-0.09, 0.42)	n.s.
Score / NAG pico	0.27	(0.01, 0.50)	p < 0.05

12A₃. CORRELACION DE SCORE CON NIVELES DE GENTAMICINA

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Score/Valle inicial	0.21	(-0.05, 0.46)	n.s.
Score/Pico	-0.01	(-0.30, 0.27)	n.s.
Score/Valle estac.	0.25	(-0.13, 0.58)	n.s.

IC r significa intervalo de confianza del coeficiente de correlación r de Pearson para una p < 0.05.

Nuestro estudio muestra que existe una correlación entre el índice de gravedad de los pacientes y la fracción de excreción previa al tratamiento de la BMG. Así mismo se objetiva entre el score y la eliminación en orina de la NAG, tanto en los valores pretratamiento como durante él.

Sin embargo no se ha comprobado que la creatinina o FENa basal ni los valores máximos alcanzados durante el tratamiento sean superiores en aquellos pacientes con peor estado.

Este trabajo no ha encontrado que los niveles séricos de AG estén afectados por la situación del individuo.

12B. CORRELACION ENTRE CARACTERISTICAS DEL TRATAMIENTO Y PARAMETROS

12B₁. CORRELACION ENTRE DOSIS TOTAL (DT) Y PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
DT / Crea pico	0.09	(-0.17, 0.35)	n.s.
DT / FENa pico	-0.14	(-0.39, 0.12)	n.s.
DT / FEBMG pico	-0.02	(-0.28, 0.24)	n.s.
DT / NAG pico	0.22	(-0.04, 0.46)	n.s.

12B₂. CORRELACION ENTRE DOSIS TOTAL (DT) E INCREMENTO DE PARAMETROS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
DT / Δ Crea	0.33	(0.07, 0.55)	p < 0.05
DT / Δ FENa	0.03	(-0.23, 0.30)	n.s.
DT / Δ FEBMG	-0.06	(-0.33, 0.20)	n.s.
DT / IEENAG	0.22	(-0.04, 0.46)	n.s.

12B₃. CORRELACION ENTRE DURACION (DUR) DE TRATAMIENTO Y PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Dur. / Crea pico	0.14	(-0.12, 0.40)	n.s.
Dur. / FENa pico	-0.15	(-0.40, 0.12)	n.s.
Dur. / FEBMGpico	0.07	(-0.19, 0.33)	n.s.
Dur. / NAG pico	0.17	(-0.10, 0.41)	n.s.

12B, CORRELACION ENTRE DURACION DE TRATAMIENTO E INCREMENTO DE VARIABLES

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
<i>Duración / Δ Crea</i>	0.31	(0.04, 0.53)	<i>p < 0.05</i>
<i>Duración / Δ FENa</i>	0.05	(-0.21, 0.31)	<i>n.s.</i>
<i>Duración / Δ FEEM</i>	-0.10	(-0.37, 0.16)	<i>n.s.</i>
<i>Duración / IEENAG</i>	0.12	(-0.14, 0.38)	<i>n.s.</i>

IC r significa intervalo de confianza del coeficiente r de Pearson para un valor de p < 0.05.

Nuestro estudio sólo ha logrado demostrar correlación significativa de la duración del tratamiento y dosis total con el incremento de creatinina, pero no así con el aumento en la FENa, FEEMG o la excreción de NAG.

12C. CORRELACION ENTRE NIVELES SERICOS DE GENTAMICINA Y PARAMETROS

12C₁. CORRELACION ENTRE VALLE INICIAL (VI) DE GN Y PARAMETROS BASALES

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
VI / Crea basal	0.27	(0.01, 0.50)	p < 0.05
VI / FENa basal	-0.11	(-0.37, 0.16)	n.s.
VI / FEBMG basal	0.04	(-0.22, 0.31)	n.s.
VI / NAG basal	0.09	(-0.18, 0.36)	n.s.

12C₂. CORRELACION ENTRE VALLE INICIAL (VI) DE GN Y PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
VI / Crea máxima	0.07	(-0.19, 0.34)	n.s.
VI / FENa máxima	-0.04	(-0.31, 0.22)	n.s.
VI / FEBMG máxima	-0.04	(-0.31, 0.22)	n.s.
VI / NAG máxima	0.10	(-0.17, 0.36)	n.s.

12C₃. CORRELACION ENTRE VALLE ESTACIONARIO (VE) DE GN Y PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
VE / Crea máxima	0.51	(0.16, 0.78)	p < 0.05
VE / FENa máxima	-0.07	(-0.44, 0.31)	n.s.
VE / FEBMG máxima	-0.29	(-0.60, 0.10)	n.s.
VE / NAG máxima	0.10	(-0.28, 0.46)	n.s.

12C, CORRELACION ENTRE PICO DE GN Y PARAMETROS MAXIMOS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
<i>Pico GN / Crea máxima</i>	0.06	(-0.22, 0.35)	n.s.
<i>Pico GN / FENa máxima</i>	0.28	(-0.01, 0.52)	p < 0.1
<i>Pico GN / FEBMG máxima</i>	0.01	(-0.28, 0.31)	n.s.
<i>Pico GN / NAG máxima</i>	-0.07	(-0.35, 0.22)	n.s.

IC r expresa el intervalo de confianza del coeficiente r de Pearson para una p < 0.05.

Se ha constatado una correlación significativa entre la creatinina basal y el valle inicial del AG, que no se ha encontrado en el resto de los parámetros. Estas mismas conclusiones se han encontrado para el valle de GN en el estado estacionario.

12D. CORRELACION ENTRE NIVELES SERICOS DE GN

12D₁. CORRELACION ENTRE VALLE INICIAL Y PICO

<u>Grupo</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Global	0.09	(-0.20, 0.38)	n.s.
Monodosis (MD)	0.22	(-0.21, 0.58)	n.s.
Triple dosis (TD)	0.74	(0.46, 0.88)	p < 0.05
No operados	0.11	(-0.33, 0.52)	n.s.
Operados	0.08	(-0.33, 0.47)	n.s.
MD no operados	0.07	(-0.55, 0.64)	n.s.
TD no operados	0.77	(0.27, 0.94)	p < 0.05
MD operados	0.45	(-0.16, 0.81)	n.s.
TD operados	0.78	(0.37, 0.93)	p < 0.05

12D₂. CORRELACION ENTRE VALLE ESTACIONARIO Y PICO

<u>Grupo</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
Global	0.04	(-0.35, 0.43)	n.s.
Monodosis (MD)	-0.03	(-0.57, 0.52)	n.s.
Triple dosis (TD)	0.62	(0.07, 0.88)	p < 0.05
No operados	-0.07	(-0.58, 0.47)	n.s.
Operados	0.11	(-0.51, 0.67)	n.s.
MD no operados	-0.12	(-0.76, 0.63)	n.s.
TD no operados	0.19	(-0.73, 0.86)	n.s.
MD operados	0.12	(-0.85, 0.90)	n.s.
TD operados	0.90	(0.37, 0.99)	p < 0.05

IC r expresa el intervalo de confianza del coeficiente r de Pearson para una p < 0.05.

Se demuestra la existencia de una correlación significativa entre los niveles séricos que se determinan en el valle, tanto en la muestra inicial como cuando se encuentra en el estado estacionario, y en el pico de GN en el regimen fraccionado de administración, pero no así en la monodosis.

12E. CORRELACION ENTRE PARAMETROS

12E₁. CORRELACION ENTRE VARIABLES BASALES

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
<i>Crea basal / FENa basal</i>	-0.10	(-0.36, 0.16)	<i>n.s.</i>
<i>Crea basal / FEBMG basal</i>	0.08	(-0.34, 0.18)	<i>n.s.</i>
<i>Crea basal / NAG basal</i>	0.33	(0.06, 0.55)	<i>p < 0.05</i>
<i>FENa basal / FEBMG basal</i>	-0.04	(-0.30, 0.22)	<i>n.s.</i>
<i>FENa basal / NAG basal</i>	0.26	(-0.01, 0.49)	<i>p < 0.1</i>
<i>NAG basal / FEBMG basal</i>	0.14	(-0.13, 0.39)	<i>n.s.</i>

12E₂. CORRELACION ENTRE VARIABLES MAXIMAS

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
<i>Crea pico/FENa pico</i>	0.00	(-0.26, 0.26)	<i>n.s.</i>
<i>Crea pico/FEBMGpico</i>	-0.05	(-0.31, 0.21)	<i>n.s.</i>
<i>Crea pico/NAG pico</i>	0.06	(-0.20, 0.32)	<i>n.s.</i>
<i>FENa pico/FEBMGpico</i>	0.37	(0.11, 0.58)	<i>p < 0.05</i>
<i>FENa pico/NAG pico</i>	0.33	(0.07, 0.55)	<i>p < 0.05</i>
<i>NAG pico/FEBMGpico</i>	0.29	(0.02, 0.51)	<i>p < 0.05</i>

12E, CORRELACION ENTRE INCREMENTO DE VARIABLES

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
$\Delta \text{Crea} / \Delta \text{FENa}$	0.01	(-0.25, 0.27)	n.s.
$\Delta \text{Crea} / \Delta \text{FE BMG}$	0.10	(-0.16, 0.36)	n.s.
$\Delta \text{Crea} / \text{IEENAG}$	0.25	(-0.01, 0.49)	p < 0.1
$\Delta \text{FENa} / \Delta \text{FE BMG}$	0.11	(-0.15, 0.38)	n.s.
$\Delta \text{FENa} / \text{IEENAG}$	0.02	(-0.24, 0.29)	n.s.
$\Delta \text{FE BMG} / \text{IEENAG}$	0.15	(-0.12, 0.40)	n.s.

IC r expresa el intervalo de confianza del coeficiente r de Pearson para p < 0.05.

Se comprueba que existe correlación significativa entre los valores basales de creatinina y NAG, y casi significativa de ésta con la FENa; sin embargo no se ha encontrado tal correlación entre la enzimuria basal y la excreción urinaria de BMG.

Por contra, se ha encontrado correlación entre los valores máximos de excreción urinaria de NAG, BMG y FENa durante el tratamiento.

12F. CORRELACION ENTRE VALORES BASALES Y MAXIMOS DE UN PARAMETRO

<u>Correlación</u>	<u>Coefficiente r</u>	<u>IC r (p < 0.05)</u>	<u>Significación</u>
<i>Crea basal vs. pico</i>	0.44	(0.20, 0.63)	<i>p < 0.05</i>
<i>FENa basal vs. pico</i>	0.28	(0.01, 0.51)	<i>p < 0.05</i>
<i>FEBMG basal vs. pico</i>	0.55	(0.33, 0.71)	<i>p < 0.05</i>
<i>NAG basal vs. pico</i>	0.69	(0.53, 0.81)	<i>p < 0.05</i>

IC r expresa el intervalo de confianza del coeficiente r de Pearson para p < 0.05.

Todos los valores máximos de los parámetros estudiados presentan correlación significativa con sus valores basales

13. REGRESION LINEAL

Se ha podido establecer ecuaciones que explican de modo significativo la relación existente entre la excreción basal y máxima de N-acetil-beta glucosaminidasa y Beta-2 microglobulina durante el tratamiento con gentamicina, tanto en mono como triple dosis. Por contra, tal relación para la fracción excrecional de sodio y creatinina no ha alcanzado un coeficiente de regresión r suficiente y superior a 0.6.

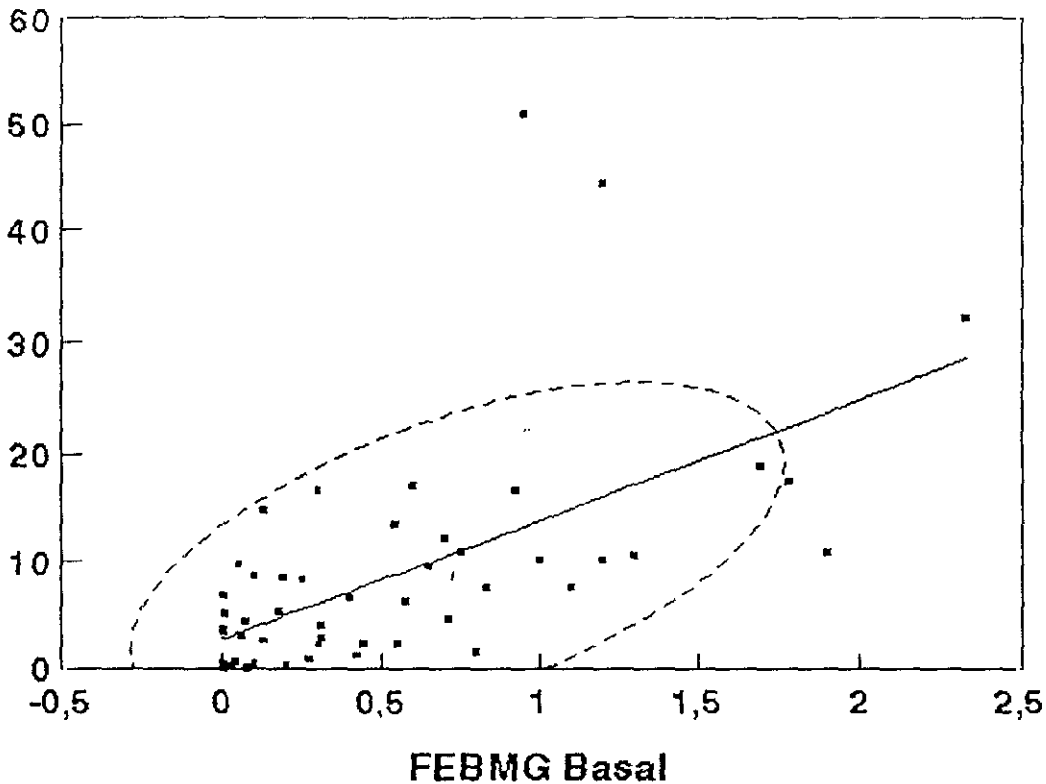
La fracción de excreción de BMG máxima se relaciona con la basal gracias a la siguiente ecuación:

$$FE\text{BMG pico} = 3.19 + (11.13 \times FE\text{BMG basal})$$

El valor de r es de 0.55

El valor de t para el coeficiente del valor basal es de 4.77, con una significación de $p < 0.001$. El valor de este coeficiente dependiente en el subgrupo de pacientes no operados que recibieron MD es de 8.1 ($p < 0.05$) y en el de TD de 13.82 ($p < 0.05$).

El análisis de regresión de la ecuación da un valor $F = 22.71$, con una significación de $p < 0.001$.



▪ FE BMG Pico — Predicted Value

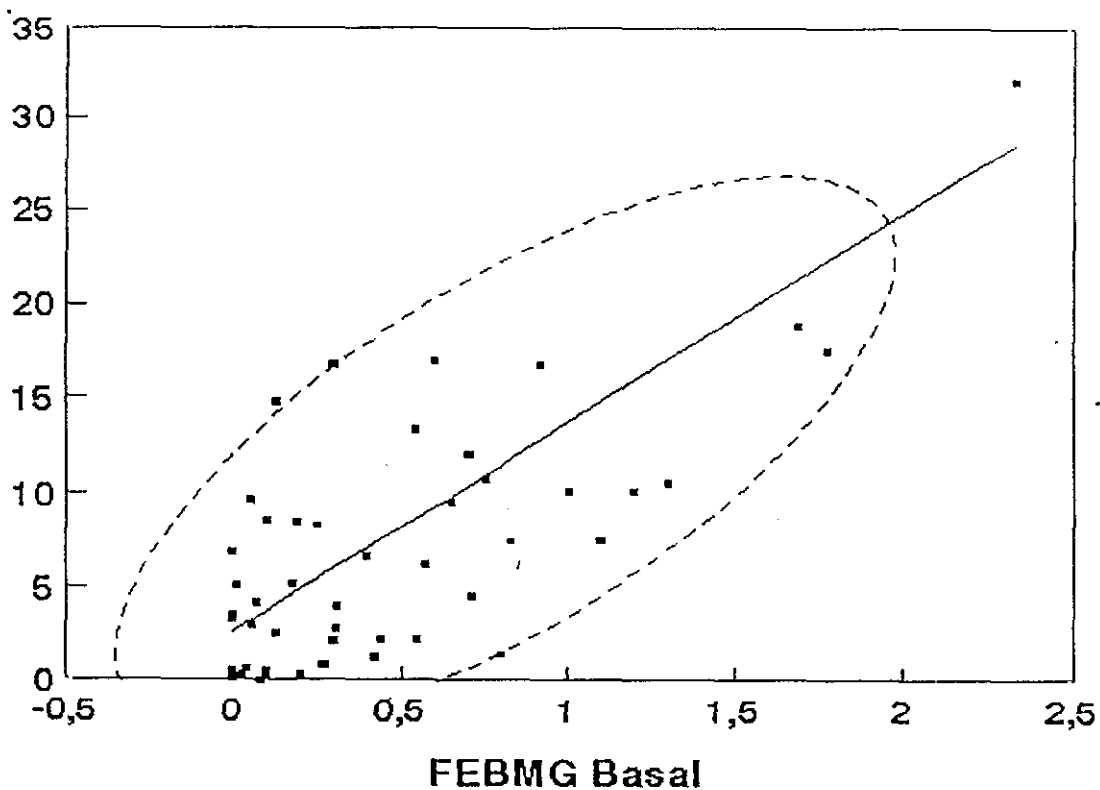
Esta curva de regresión alcanza un coeficiente r de 0.72 cuando no se toman en consideración dos muestras "outliers", que corresponden a dos pacientes operados, cada uno tratado con un régimen de gentamicina:

$$FE\text{BMG pico} = 2.43 + (8.52 \times FE\text{BMG basal})$$

El valor de r es de 0.72

El valor de la t para el coeficiente del valor basal es de 7.45, con una significación de $p < 0.001$.

El análisis de regresión de la ecuación da un valor $F = 55.54$, con una significación de $p < 0.001$.



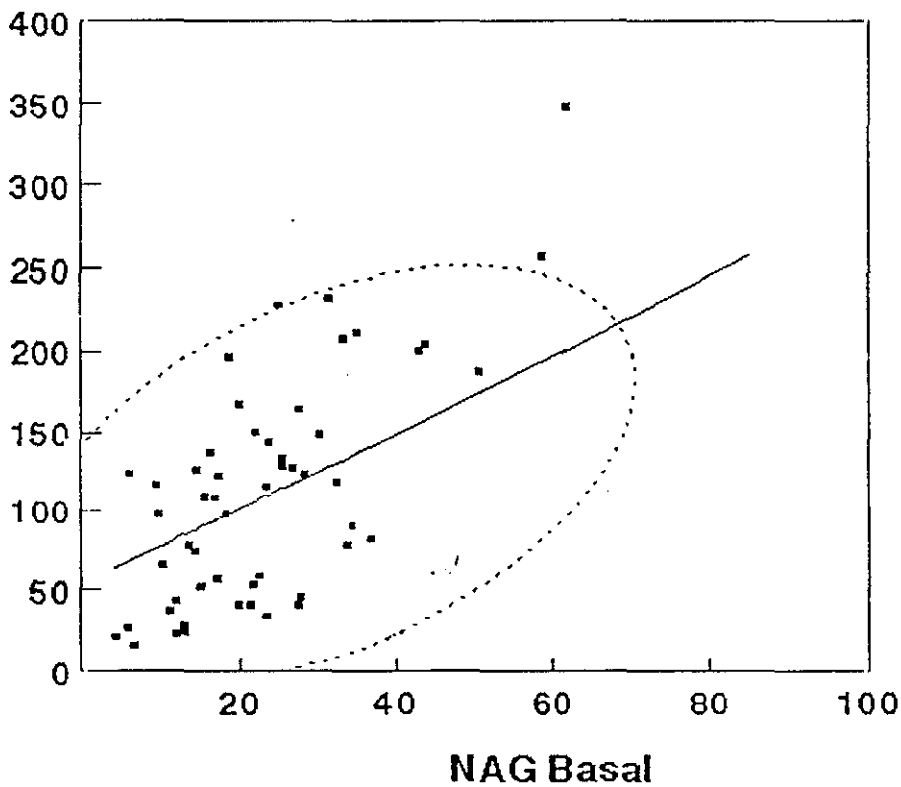
El valor de la excreción urinaria máxima de NAG se relaciona con el basal merced a la siguiente ecuación:

$$\text{NAG máximo} = 21.29 + (3.93 \times \text{NAG basal})$$

El valor de r es de 0.69

El valor de la t para el coeficiente del valor basal es de 7.06, con una significación de $p < 0.001$. El valor de este coeficiente dependiente en el subgrupo de pacientes no operados que recibieron MD es de 3.25 ($p < 0.005$) y en el de TD de 4.17 ($p < 0.01$).

El análisis de regresión de la ecuación da un valor $F = 49.94$, con una significación de $p < 0.001$.



▪ NAG Pico — Predicted Value

DISCUSSION

La insuficiencia renal es una de las complicaciones más frecuentes y potencialmente severas en los pacientes hospitalizados. En un estudio prospectivo de más de 2000 enfermos ingresados en una institución sanitaria, Hou y col.⁽⁴⁶⁾ observaron una incidencia de 4.9 %, implicándose el uso de AG en el 7 % de estos episodios. El costo económico de cada uno ha sido calculado por Eisenberg y col.⁽²⁴⁹⁾ en 1987 en 2500 \$.

Los AG constituyen soporte fundamental en el tratamiento de infecciones severas por bacilos gram negativos, BG(-). Sin embargo debido a su toxicidad ha sido desplazado en la práctica clínica por cefalosporinas y quinolonas. El uso abusivo de éstos ha tenido como consecuencia la aparición de múltiples cepas resistentes, lo que ha obligado a la búsqueda de nuevas estrategias en el uso de antibióticos.

Los AG poseen muchas de las características consideradas como ideales para un antibacteriano^{(96) (250) (251) (252) (253) (254)}: (a) actividad potente frente BG(-), (b) actividad inhibitoria que no se afecta por el tamaño del inóculo bacteriano, (c) actividad bactericida rápida y esencialmente completa, (d) farmacocinética predecible y dependiente de la dosis y (e) capacidad de interaccionar sinérgicamente con betalactámicos y otros antibióticos activos sobre pared celular.

Por ello los AG han sido de nuevo foco de atención, y se han estudiado diversas estrategias para reducir la toxicidad renal^{(42) (167)}:

(1).La reducción de la captación de AG por la "membrana en cepillo" mediante el uso de aniones (piperacilina) que sean secretados por las células tubulares y neutralicen a aquel no ha demostrado utilidad clínica.-

(2). *El desplazamiento del AG de su punto de unión al fosfolípido de membrana mediante la coadministración de poliaminas sólo ha sido estudiada en animales.*

(3). *La disminución del daño celular, reduciendo los aniones superóxido, mediante suplementos de zinc se encuentra en fase empírica.*

(4). *De todas las estrategias solamente la administración como monodosis (MD), cuyo objetivo es la saturación de los receptores tubulares, tiene aplicación clínica en el momento actual.*

La dosificación habitual de los AG cada 8-12 horas fue diseñada para mantener niveles séricos de antimicrobiano por encima de la MIC el mayor tiempo posible. Sin embargo estudios posteriores⁽⁶⁸⁾ han demostrado que el parámetro farmacodinámico que se correlaciona en los AG con la eficacia es el "área bajo la curva concentración-tiempo" (AUC), pudiéndose modificar los intervalos de dosificación sin afectarse la tasa de erradicación microbiológica, siempre y cuando no se supere el tiempo sobre la MIC más el derivado del efecto postantibiótico (PAE)⁽⁸⁷⁾. Esto permite su uso en clínica como MD.

Las bases farmacocinéticas por las que la MD presenta al menos idéntica eficacia frente a los regímenes convencionales, fraccionados cada ocho o doce horas, son:

(a). *La actividad bactericida es directamente proporcional a la concentración de AG, con lo que a mayor dosis y pico sérico, mayor tasa de letalidad microbiana^{(70) (84) (85)}.*

(b). *Presenta efecto postantibiótico (PAE) -inhibición del crecimiento bacteriano*

cuando ya no persiste el antimicrobiano en el medio- que se correlaciona de modo positivo con la dosis^{(101) (106) (108) (139)}, por lo que cuanto mayor sea ésta, mayor tasa bacteriostática.

(c).Durante la fase PAE los microorganismos son más sensibles a la actividad antibacteriana de los leucocitos (efecto PALE), por lo que a mayor dosis, superior capacidad fagocítica de los glóbulos blancos^{(102) (106) (122)}.

(d).La aparición del fenómeno de resistencia adaptiva cuando un germen se encuentra en contacto continuo con un AG, debido a una infrarregulación temporal de su captación, puede ser soslayada prolongando el intervalo de dosificación; de este modo la administración frecuente posibilita la aparición de esta resistencia funcional, mientras intervalos amplios lo impide^{(128) (132) (134)}.

Son múltiples los estudios experimentales y en animales realizados sobre los regímenes de administración en forma de monodosis de aminoglucósidos, comparativos o no, que emulan la farmacodinámica humana^{(68) (71) (85) (86) (144) (151) (256) (257)}. Sus resultados permitieron iniciar ensayos clínicos en pacientes con infecciones severas por BG (-), en número de diecisiete con netilmicina^{(12) (42) (102) (162) (165) (166) (167) (168) (169) (170) (171) (172) (173) (183) (186) (187) (190)}, quince para amikacina^{(156) (163) (167) (174) (175) (176) (177) (178) (179) (180) (181) (182) (184) (185) (188)}, cinco con tobramicina^{(142) (157) (158) (161) (187)} y dos para sisomicina⁽¹⁵⁴⁾.

La gentamicina (GN) se ha utilizado en modo de MD en cuatro artículos en infecciones del tracto urinario en niños^{(153) (159) (160) (164)} –estudios no comparativos y sin

grupo control que recibiera tratamiento fraccionado convencional. Sólo se han realizado dos estudios en adultos^{(172) (189)}.

De los estudios realizados se obtienen dos conclusiones:

(1). Es preciso utilizar parámetros más sensibles que el incremento de creatinina o la disminución de su aclaramiento para detectar la presencia de nefrotoxicidad: fosfolipiduria, enzimuria, excreción urinaria de determinadas proteínas de bajo peso molecular.

(2).El comportamiento farmacocinético es diferente para cada aminoglucósido. La conducta farmacológica en el compartimento renal se modifica según el régimen de administración del antibiótico. Debido a ello los estudios clínicos deben realizarse individualmente para cada uno de los aminoglucósidos.

(1).Cuando se ha utilizado como criterio de nefrotoxicidad incrementos de creatinina, los estudios realizados -algunos con potencia suficiente para afirmar la hipótesis nula de igualdad entre dos regímenes de administración de aminoglucósidos- no han demostrado diferente incidencia en la amikacina (cuatro de ellos con error beta inferior a 0.10 -0.20^{(178) (179) (180) (185)} y en otros dos superior a ello^{(181) (188)}), netilmicina (dos con error beta inferior a 0.10 -0.20^{(171) (173)} y otros tres con potencia casi suficiente^{(167) (183) (186)}) o en la tobramicina (aunque maneja un error beta considerable⁽¹⁵⁶⁾).

Sin embargo cuando se utiliza la fosfolipiduria en estudios comparativos de dos modos de dosificación de netilmicina^{(42) (102) (174)} o amikacina⁽¹⁷⁴⁾, o bien la enzimuria

entre monodosis y triple dosis del primer aminoglucósido⁽¹⁶⁵⁾, en todos ellos se demuestra diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de nefrotoxicidad.

Galloe⁽²⁵⁸⁾ realizó un meta-análisis de 16 estudios (14 de ellos abiertos y 2 doble ciego) que comparan dos regímenes de administración de aminoglucósidos, que no incluyen a la gentamicina, y cuyo criterio de nefrotoxicidad es el incremento de creatinina, y concluye que: (a) la eficacia de monodosis es del 82.2% y de múltiples dosis 81.6% y (b) la incidencia de daño renal es similar en ambos, 8.6%. Calcula que el riesgo de (a) no detectar una diferencia de al menos un 10% de eficacia superior del regimen fraccionado respecto al de monodosis es inferior a 0.001, pero (b) el riesgo de no detectar un incremento de nefrotoxicidad de al menos el 10% con el modo de dosificación convencional respecto a la monodosis es de 0.28.

(b). Los aminoglucósidos no presentan un comportamiento farmacocinético homogéneo. La captación tubular renal de cada aminoglucósido sigue una cinética diferente^{(13) (27) (62) (63)}: lineal la tobramicina, saturable según modelo de Michaelis-Menten la gentamicina y netilmicina, y mixta en el caso de la amikacina -saturable a dosis bajas y lineal a concentraciones elevadas; además la captación inicial de gentamicina es mayor que la de netilmicina.

La reabsorción tubular de la gentamicina es superior de modo significativo a la de cualquier otro aminoglucósido cuando se estudia en voluntarios sanos⁽⁶¹⁾.

La afinidad de las células tubulares proximales aisladas varía para cada antibiótico, siendo superior para netilmicina y gentamicina, menor para tobramicina y mínimo para amikacina⁽¹⁹⁾⁽²⁷⁾. Y ello se ha correlacionado a nivel clínico con la fracción de excreción de cada aminoglucósido⁽⁶¹⁾.

La capacidad de inhibición de las fosfolipasas lisosomales se correlaciona con el número de grupos amino⁽³⁷⁾ -cinco en el caso de la gentamicina- que condiciona la carga neta iónica a un pH fisiológico de 7.4; así éste es de 3.48 y 3.46 para netilmicina y gentamicina, pero para tobramicina es de 5.10⁽⁶⁵⁾. De este modo se explica la jerarquización en la facultad de alterar la actividad de estas enzimas: máxima para sisomicina, gentamicina y netilmicina, menor para tobramicina y mínima para amikacina y estreptomina⁽⁶⁷⁾.

Una vez se almacenan los aminoglucósidos en el riñón la distribución de los mismos a nivel corticomedular es heterogénea; así el ratio concentración tubular/intersticial es mayor para netilmicina y amikacina (3:1) que para gentamicina o tobramicina (1:1)⁽¹²⁾. Y en ratas además se ha comprobado que la tasa de incremento de depósito renal en relación con el aumento progresivo de dosis es distinta para cada aminoglucósido⁽⁶⁰⁾; así resulta ser el doble para tobramicina que para gentamicina.

Además la captación renal es diferente según el régimen de dosificación del aminoglucósido; así al comparar infusión continua frente dosis fraccionada⁽¹⁸⁰⁾ la netilmicina y gentamicina alcanzan el cuádruple de concentración con el primer modo de administración que con el segundo, pero con tobramicina sólo el doble, y en la amikacina resulta inalterable.

Todo ello permite concluir que tanto el regimen de administración como el

aminoglucósido concreto influyen sobre la captación, depósito y probablemente su capacidad tóxica renal. Y aquellos antimicrobianos con cinética saturable se beneficiarán de intervalos prolongados de dosificación, ya que a dosis equivalentes el tiempo de contacto entre receptor y antibiótico será menor, así como su capacidad tubulotóxica.

La beta-2-microglobulina (BMG) forma parte de las proteínas de bajo peso molecular, junto a la lisozima y la RBP - proteína ligadora de retinol- que poseen la capacidad de filtrarse incluso en ausencia de daño glomerular⁽¹⁸⁾. El mecanismo por el que durante el tratamiento con aminoglucósidos aparece incrementada en orina su concentración es la interferencia de su reabsorción tubular. Aun cuando algunos autores describen la existencia de un umbral⁽¹⁹⁵⁾, la mayoría ha observado una correlación lineal entre la tasa de excreción renal de BMG y gentamicina⁽²⁵⁹⁾; por ello se considera que cuando aparece aumentada sus niveles en orina existe cierto grado de daño celular.

Aunque es un parámetro muy sensible, en poblaciones no seleccionadas puede resultar poco específico -se eleva con el uso de otros agentes y en situaciones nefrotóxicas descritas en apartados previos- y por ello todo estudio que la utilice como herramienta de trabajo debe excluirlas. Se ha comprobado que las enzimas leucocitarias catalizan la proteína⁽¹⁹³⁾, por lo que no deben incluirse pacientes con infecciones urológicas. El manejo debe además realizarse sobre muestras frescas, ya que orinas muy ácidas -como la primera de la mañana- degrada la proteína⁽¹⁹³⁾.

En la actualidad no es preciso recoger toda la diuresis, ya que una muestra única obtenida a la misma hora del día -para obviar el ritmo circadiano en la excreción

*urinaria- puede ser comparable de día en día cuando se pondera con la creatinuria⁽¹⁹²⁾
⁽¹⁹³⁾. En varios estudios se ha constatado que el incremento de BMG urinaria precede en
cuatro o cinco días al de creatinina^{(198) (200) (201) (203)}.*

Con estas consideraciones la determinación de la fracción de excreción de BMG es útil en la valoración de la nefrotoxicidad por aminoglucósidos porque es un método sensible, cuya especificidad se incrementa cuando se selecciona la población de individuos en que se utiliza y se excluyen causas de falsos negativos (orinas no ácidas de pacientes sin infección del tracto urinario) o de variabilidad interindividual (muestras recogidas a la misma hora para obviar las oscilaciones a lo largo del día). Tal y como dice Gatell⁽²⁰²⁾, un incremento de la BMG en orina se debe atribuir a los aminoglucósidos cuando se han excluido otras causas de ello.

La Beta-N-acetil glucosaminidasa (NAG) es una enzima con actividad hexosaminidas que se localiza en todas las fracciones celulares: citosol soluble -la mayor parte- en el núcleo, así como en lisosomas y mitocondrias. La NAG localizada en estas dos organelas son las únicas hidrolasas que se utilizan en el laboratorio clínico, ya que el resto (α y β glucosidasas, β galactosidasas, β glucuronidasas, α fucosidasas, α manosidasas) se excreta en cantidades mínimas. Su determinación urinaria supera en sensibilidad y precisión a las enzimas del "borde en cepillo" (γ -glutamyl transferasa, alanin-aminopeptidasa, fosfatasa ácida y alcalina)⁽²⁰⁹⁾.

El mecanismo por el que se incrementa su excreción urinaria durante el tratamiento con aminoglucósidos no es completamente conocido, pero se reconoce tanto un aumento de la enzimuria como una modificación del patrón isoenzimático. La mera

inestabilidad lisosomal y liberación de la NAG inducida por el daño celular provocado por la gentamicina no resulta explicación suficiente, barajándose además una neosíntesis de isoenzimas B e I en el sistema endoplásmico rugoso y aparato de Golgi, y una desialización intralisosomal de las formas A⁽²¹¹⁾ (214).

La determinación de isoenzimas no aporta mayor sensibilidad que la cuantificación de la actividad total, pues los incrementos de NAG B no resultan específicos para una causa concreta⁽²¹⁸⁾.

La NAG constituye así un parámetro precoz -se eleva de modo inmediato tras instaurar el tratamiento⁽²²⁷⁾- sensible y específico, cuando se excluyen otras causas que expliquen su incremento. Y ello es así porque la NAG cumple los criterios definidos por Gonick⁽²²⁵⁾ para utilizar la enzimuria en patología renal:

-La enzima se encuentra en altas concentraciones en el parénquima renal (es el órgano con mayor contenido de NAG del organismo), pero además está ausente o es sustancialmente menor su concentración en el tracto urinario inferior.

-La enzima presenta un alto peso molecular (100.000 daltons) que impide la filtración glomerular de la NAG circulante y originaria de otros órganos.

-La contribución bacteriana del sedimento urinario es mínima sobre la actividad enzimática.

-Tal actividad enzimática permanece estable durante al menos varios días en nevera (en concreto la NAG hasta seis meses a -20°C).

-Los agentes inhibidores de la actividad enzimática se encuentran ausentes en orina, o hallándose presentes son eliminados por diálisis.

-La determinación es reproducible, precisa y válida (la variabilidad en la misma

muestra es inferior al 5%).

La variabilidad interpersonal se supera ponderándolo con la excreción de creatinina en orina^{(218) (260)}. La variabilidad intraindividual^{(219) (220) (221) (222)} relacionada con la presencia de ritmo circadiano se obvia recogiendo muestras de orina en el mismo momento del día.

Con base en estas aseveraciones Gibey⁽²²⁷⁾ confirmó que se trataba de un test eficaz y apropiado para estudiar la tubulotoxicidad inducida por aminoglucósidos.

La población incluida en nuestro estudio corresponde a todos aquellos individuos con sospecha de infección severa por BG(-) que recibieron tratamiento con gentamicina en un período de un año en los servicios de M.Interna y Cirugía, y cuya duración alcanzase al menos cinco días. Se consideró este límite mínimo para ser valorable porque un tiempo inferior podría tener efectos deletéreos sobre el túbulo renal sin afectar aún el aclaramiento de creatinina^{(41) (49) (261)}. Algunos autores⁽¹⁸⁹⁾ utilizan tiempos aún inferiores -48 horas- para incluir a sus pacientes en el análisis estadístico, mientras otros se sitúan en el otro extremo -hasta 7 días^{(43) (54)}. Los pacientes fueron observados durante al menos dos días tras finalizar el tratamiento porque muchos trabajos atribuyen a los aminoglucósidos la nefrotoxicidad que ocurre en este período^{(169) (173) (180) (182) (253)}.

El número relativamente escaso de pacientes reclutados confirma el uso infrecuente y selectivo de los aminoglucósidos en la actualidad; de ahí deriva el interés de un estudio clínico que valore la nefrotoxicidad de regímenes alternativos al fraccionado convencional.

Los resultados obtenidos en el trabajo pueden atribuirse a los aminoglucósidos porque:

(a). Existe relación temporal entre la instauración de la antibioticoterapia y las variaciones en el valor de los parámetros, propio de un estudio prospectivo.

(b). Los parámetros utilizados valoran realmente la función tubular, tal y como se ha descrito previamente cuando se ponderan con la creatinuria. Se han excluido previamente al reclutamiento de pacientes aquellas circunstancias que podían alterar el valor de la BMG (enfermedades autoinmunes o inmunosupresoras, infección por VIH o discrasias de células plasmáticas que incrementan su síntesis) o de la NAG en orina (diabetes mellitus, infecciones urinarias, uso previo de furosemida o conectivopatías que incrementan la enzimuria). El uso de aminoglucósidos en un período previo de catorce días fue motivo de exclusión (en trabajos previos se sitúa entre siete días y un mes).

Se decidió limitar el estudio a pacientes con creatinina basal inferior a 1.5 mg/dl porque incrementos fijos de ella en pacientes con función renal deteriorada no tienen el mismo valor que para pacientes con función renal normal. Además la sensibilidad del túbulo al aminoglucósido es probablemente diferente a distintos valores de aclaramiento de creatinina. Tal ha sido una de las críticas realizadas a algunos artículos⁽¹⁸⁹⁾ que incluyen pacientes con valores basales de creatinina que alcanzan a 3.5 mg/dl.

(c). Se excluyeron como causa de variación significativa de los parámetros medidos otras circunstancias (fiebre, infección o antibioticoterapia asociada) mediante la comparación con un grupo control equivalente al que no se administró gentamicina. Se comprobó que ninguna de las circunstancias señaladas explicaba la presencia de incrementos significativos en la FENa, FEBMG y NAG durante el tratamiento.

Por último señalar que no se incluyeron pacientes neutropénicos porque la eficacia de los aminoglucósidos disminuye al carecer del efecto PALE.

En trece pacientes se inició la observación y se suspendió el tratamiento precozmente por alta voluntaria o fallecimiento, confirmación de que el síndrome febril no era de causa infecciosa o por pronta demostración de que el germen aislado no era sensible a la gentamicina. Las características clínicas, la indicación del tratamiento, score de gravedad, antibioticoterapia asociada y valores basales de NAG, FEBMG y creatinina no eran diferentes al grupo seguido de modo completo.

El porcentaje de pacientes en los que el cultivo resultó positivo -33%- fue similar al de estudios previos, ascendiendo al 60% cuando se excluyen los pacientes tratados por peritonitis objetivada en el acto quirúrgico^{(157) (171) (173) (180) (189)}. Los gérmenes aislados son los habituales, fundamentalmente Enterobacterias.

Los antibióticos asociados a la gentamicina fueron fundamentalmente anaerobicidas y penicilinas / cefalosporinas de tercera generación, con distribución equitativa entre los dos grupos terapéuticos.

La dosis utilizada (1 mg/ kg/ 8h y 3 mg/ kg/ 24 h) es la convencional, y se modificó de acuerdo a niveles séricos de aminoglucósido y valor de creatinina. Cuando esta última superaba 2 mg/dl se decidía suspender el antibiótico. En régimen de triple dosis se utiliza una pauta convencional de modificación de dosificación de acuerdo a los

niveles séricos de gentamicina⁽¹⁾. En monodosis la elección de los valores utilizados como referencia para alterar la dosificación fue arbitraria, pero guiado con aire conservador para evitar inducir nefrotoxicidad -dada la ausencia de estudios en humanos con gentamicina que se plantean esta cuestión. Y así, presentando similar eficacia clínica ambos grupos, el número de ocasiones en que fue preciso modificarla no fue diferente -tres en monodosis y dos en triple dosis.

Las diferencias encontradas en los parámetros estudiados durante la comparación de los dos regímenes no son atribuibles a distinta duración del tratamiento o dosis total, ni a diferente score de gravedad o edad del paciente -todos ellos factores de riesgo reconocidos para el desarrollo de nefrotoxicidad clínica.

Tanto en pacientes operados como no sometidos a cirugía el pico sérico de gentamicina es distinto entre monodosis y triple dosis. Ello tiene enorme importancia clínica porque de este modo se alcanzan precozmente mayores concentraciones tisulares de aminoglucósidos⁽⁸⁸⁾, así como superior capacidad bactericida en el foco de infección desde el primer día⁽¹⁰³⁾. Además concentraciones séricas de gentamicina superiores a 5 µg/ml - que se obtienen con mayor frecuencia en régimen de monodosis - se asocian a buena evolución clínica y menor incidencia de bacteriemia de brecha⁽⁹³⁾. Por otro lado se obtiene un beneficio adicional utilizando dosis iniciales elevadas en individuos sépticos por que su volumen de distribución está incrementado respecto a personas sanas y el uso de regímenes fraccionados convencionales puede constituir una verdadera infradosificación^{(90) (91)}. Finalmente la duración del efecto postantibiótico, en sinergismo

o no con antibióticos activos frente a la pared celular ⁽¹²⁰⁾, se incrementa de modo proporcional al pico alcanzado ^{(101) (106) (108)}, y el desarrollo de tolerancia es menor ⁽¹¹²⁾.

La diferencia entre los valles séricos de ambos regímenes, aunque inferior el de monodosis, no alcanza significación estadística, probablemente por que sería preciso incrementar el tamaño de la muestra para contrastar una menor diferencia.

Se ha comprobado que existe correlación entre el valle de gentamicina y la creatinina sérica. Además se ha constatado que el valle sérico de aminoglucósido de los pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad -definida como creatinina máxima superior a 1.5 mg/dl- fue superior al de aquellos que no la presentaron. Estos datos son coherentes con los obtenidos por Hickling ⁽²⁶²⁾, que observa un coeficiente de determinación r^2 de 0.58 entre los aclaramientos de creatinina y sérico de aminoglucósido. Y ello porque en ausencia de unión significativa a proteínas séricas y de metabolismo hepático, la vía de aclaramiento de gentamicina es renal ⁽²⁵³⁾. Sin embargo, el hallazgo de tal relación no significa que sea causal -que el incremento de creatinina sea debido a un valle sérico de aminoglucósido elevado- pues pueden expresar un único fenómeno: la disminución del filtrado glomerular. Esto no significa que la determinación de los niveles séricos del antibiótico sea algo gratuito, sino que su utilidad radica en valorar adecuadamente su aclaramiento y ajustar posteriormente las siguientes dosis.

Por otra parte no se ha comprobado correlación entre el valle de gentamicina y la excreción urinaria de NAG y BMG; y ello probablemente no sea debido a una potencia insuficiente del estudio -ya que tanto la enzimuria como la excreción urinaria de BMG son parámetros más sensibles de disfunción renal que la creatinina- sino a que el

aclaramiento de los aminoglucósidos es vía filtrado glomerular, dependiendo en escasa medida de la resorción en las células tubulares proximales. Sólo se liga al "borde en cepillo" menos del 5% de la carga de aminoglucósido filtrada^{(4) (5) (6)}, por lo que los marcadores de toxicidad tubular no se relacionan necesariamente con los niveles séricos de gentamicina.

El hallazgo de diferencias significativas en la excreción urinaria de NAG y BMG no son explicables por los niveles séricos del aminoglucósido, ya que el valle es similar en los dos regímenes. Otras variables farmacocinéticas -volumen de distribución y aclaramiento de gentamicina- son inherentes al paciente y son independientes del modo de dosificación^{(90) (91)}. La explicación parece hallarse en la interacción entre el antibiótico y su receptor en la célula tubular proximal; las características que éste presenta para la gentamicina -saturable y de baja afinidad⁽¹¹⁾- condiciona que el tiempo de contacto entre ambos sea superior a isodosis para regímenes fraccionados que para monodosis. Esto ya fue planteado por Aronoff⁽⁵⁹⁾ en ratas y Contrepois⁽⁶¹⁾ en voluntarios sanos en estudios con regímenes convencionales en la década de los ochenta, no volviéndose a tener en consideración posteriormente. Esta hipótesis requeriría una confirmación a nivel experimental.

La eficacia clínica fue similar entre ambos regímenes de dosificación, de acuerdo a los datos reseñados en la literatura⁽²⁵⁸⁾. Dado el escaso número de aislamientos no ha podido llevarse a cabo un análisis con significación estadística.

El tamaño muestral y la potencia del estudio constituyen una limitación a la hora

de afirmar una hipótesis nula. Considerando tales aseveraciones en nuestro estudio el riesgo de no detectar una diferencia de toxicidad renal o tubulotoxicidad de al menos el 30% entre monodosis y el régimen convencional fraccionado de gentamicina es de 0.20.

El objetivo de nuestro estudio es comprobar si existe diferencia significativa en el comportamiento del túbulo renal cuando se administran dos regímenes de gentamicina: monodosis frente triple dosis. Dada la naturaleza de nuestros pacientes son dos las variables identificadas que influyen sobre los parámetros medidos: el tratamiento con aminoglucósidos y la presencia o no de cirugía. Por ello las aseveraciones expuestas a continuación no se basan en simples comparaciones de medias, sino en análisis de varianza.

El número de pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad -creatinina sérica durante el tratamiento superior a 1.5 mg/dl- fue similar en los dos regímenes de dosificación -14.8%- tanto en el conjunto de pacientes operados (1 y 2 pacientes tratados con monodosis y triple dosis) como no operados (3 y 2 individuos respectivamente), similar a las descripciones previas^{(102) (166) (169) (171) (173) (179) (183) (185)}. Utilizando criterios de toxicidad renal propios de otros estudios con aminoglucósidos -incremento de creatinina superior: a 0.4 mg/dl⁽⁴³⁾ o a 1/3 del valor basal⁽⁴⁴⁾ o a el 50% de la creatinina inicial⁽⁴⁵⁾- tampoco se ha objetivado diferente incidencia entre los dos grupos de tratamiento. Tampoco se ha observado una mayor tasa de incremento de la creatinina en rango no nefrotóxico con el régimen de triple dosis frente a monodosis, tal y como había sido descrito por algún autor⁽¹⁸¹⁾ previamente para la amikacina.

Entre aquellos pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad, el momento de su

aparición en el grupo de triple dosis no fue más precoz que en el de monodosis, a diferencia de lo que estudios previos apreciaron para netilmicina⁽¹⁷³⁾ y amikacina⁽¹⁸⁵⁾.

Se observó que existe correlación entre el valor basal de creatinina y el máximo alcanzado durante el período de observación, así como entre la dosis total y duración del tratamiento y el incremento de creatinina. Ello es coherente con los datos ya conocidos que afirman que el riesgo de desarrollo de nefrotoxicidad es superior en aquellos individuos que presentan menor creatinina basal o reciben dosis altas de gentamicina por tiempo prolongado^{(1) (49)}.

La afectación tubular de dos regímenes de dosificación de aminoglucósidos apenas ha sido investigada. Sólo hay registrados dos estudios comparativos, que valoran fosfolipiduria entre monodosis y régimen fraccionado de netilmicina⁽¹⁰²⁾ y amikacina⁽²⁶³⁾, y ambos comprueban que la primera induce menos tubulopatía y además es de aparición más tardía.

Durante el tratamiento se ha comprobado un incremento tanto de la fracción excrecional de sodio, como de la enzimuria por NAG y de la excreción urinaria de BMG, que expresa el desarrollo de tubulotoxicidad durante el tratamiento con aminoglucósidos y tras cirugía. Durante el primer día de observación este incremento de los parámetros medidos en orina resulta significativo para todos ellos, en todos los grupos de pacientes operados o no, que recibieron monodosis o triple dosis de gentamicina.

La capacidad tubulotóxica de los aminoglucósidos se ha valorado analizando conjuntamente el valor de la excreción urinaria máxima o pico de cada parámetro, y el ratio que representa el incremento sobre los valores basales ponderándolo con un valor

de referencia, en concreto el máximo -ratios (FENa pico -FENa basal)/FENa pico y (FEBMG pico - FEBMG basal) / FEBMG pico e IEENAG. En la literatura se prefiere utilizar el resultado máximo como denominador, pues así se reduce el error derivado de recoger muestras no estrictamente basales, cuando se reclutan los pacientes en el estudio. Cuando se utilizan estos ratios se obvia la variabilidad derivada de la excreción individualizada de cada paciente al ponderarse con un valor de referencia propio de cada sujeto^{(192) (202) (241) (242) (264)}.

Nuestro resultados demuestran que la monodosis de gentamicina produce una excreción urinaria máxima de NAG y un incremento de su actividad enzimática en orina -IEENAG- inferior que el régimen fraccionado convencional de triple dosis. Esto se ha comprobado en el grupo de pacientes que no fueron sometidos a cirugía. Estos mismos datos se han obtenido con la fracción excrecional de sodio. Esto es así por que la unión al "borde en cepillo" del aminoglucósido es saturable^{(15) (29)}, y cuando la dosis administrada y filtrada supera el umbral de reabsorción - fenómeno que ocurre más frecuentemente en mono que en triple dosis ya que las dosis fraccionadas son obviamente mayores - se elimina por orina. De este modo la fracción unida a las células tubulares proximales que tras internalizarse por pinocitosis interaccionará con las fosfolipasas lisosomales^{(12) (21) (22)} y de membrana celular es inferior en el primero que en el segundo régimen, y así mismo sus eventos fisiológicos: enzimuria⁽¹⁸⁾ y disminución en la capacidad de reabsorber cationes (Na y Ca)^{(18) (19)} y proteínas de bajo peso molecular que se filtran por glomérulo (RBP, BMG y lisozima)⁽¹⁹⁴⁾

Como conclusión se puede afirmar que la monodosis es menos tubulotóxica que la triple dosis. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Ibrahim y col.⁽¹⁷⁴⁾ y

Tulkens y col.⁽⁴²⁾ para amikacina utilizando fosfolipiduria y para netilmicina por Van der Auwera⁽¹⁰¹⁾ y Pierre y col.⁽¹⁶⁵⁾ usando fosfolipiduria y enzimuria respectivamente.

Durante el primer día de observación este incremento de los parámetros medidos en orina resulta significativo para todos ellos, en todos los grupos de pacientes operados o no, que recibieron mono o triple dosis de gentamicina. Esta aseveración confirma la precocidad con que aumentan los marcadores tubulares de toxicidad^{(22) (27) (42) (44) (57) (199) (200) (293) (216) (218) (223) (226) (228)} durante la administración de aminoglucósidos. Por contra no se ha constatado que el incremento de la enzimuria sea posterior al de la excreción urinaria de proteínas de bajo peso molecular (BMG), tal y como afirmaba algún autor previamente ⁽²⁹⁾.

En los pacientes operados la excreción urinaria máxima de NAG y el IEENAG no se han demostrado que sean diferentes, probablemente porque el propio acto quirúrgico induce una disfunción tubular que enmascara la influencia del régimen de administración sobre la enzimuria^{(223) (260)}.

Sin embargo la fracción excrecional de BMG no es distinta entre monodosis y triple dosis; y ello resulta explicable porque: (a) al ser un parámetro menos sensible que la NAG se precisaría un tamaño muestral superior para demostrar que la hipótesis de igualdad de excreción de la proteína entre ambos regímenes es incierta^{(235) (265)} –además la correlación entre los dos parámetros no alcanza en algunos estudios el 40-50%⁽¹⁹⁹⁾, y (b) el mecanismo que la gentamicina utiliza para provocar un cambio en la excreción urinaria de BMG y NAG es diferente, ya que el de la enzimuria es más específico y depende del daño lisosomal inducido por los aminoglucósidos, mientras en la BMG sólo se produce una inhibición en su reabsorción. Según Walenkamp y col.⁽¹⁹⁵⁾ la resorción

a nivel de la membrana celular tubular proximal de la BMG tiene un carácter competitivo y no lineal, por lo que al no ser un mecanismo saturable, a isodosis de ambos regímenes de administración, se induciría similar tasa de excreción renal de esta proteína en relación con la tasa de excreción de gentamicina. No hay que olvidar que parte del beneficio derivado de la monodosis procede de su capacidad para saturar los receptores tubulares, pero cuando el parámetro medido no se absorbe con cinética saturable, las presuntas ventajas de un régimen sobre otro no son evidenciable utilizando este parámetro.

Las curvas de excreción urinaria de NAG y sodio a lo largo del tratamiento son significativamente diferentes entre los dos regímenes de administración de gentamicina a partir del tercer día, resultando menor la excreción total de enzimuria y natriuresis en los pacientes tratados con monodosis respecto al de triple dosis en el grupo de individuos no sometidos a cirugía. La razón por la que durante el primer día no es ya evidenciable responde al hecho de que la tubulotoxicidad de los aminoglucósidos es dosis-dependiente y precisa tiempo para manifestarse ⁽¹⁾ (49).

El momento en que aparece la máxima excreción urinaria de NAG, FENa y FEBMG entre los dos modos de dosificación de gentamicina no es distinto, a diferencia de lo descrito para creatinina y fosfolipiduria con netilmicina ⁽¹⁰²⁾ (173) (263) y amikacina ⁽¹⁸⁵⁾ (263). Sin embargo nuestro estudio logra demostrar que la cirugía anticipa el día en que ocurre la máxima natriuresis y excreción de BMG, y de modo casi significativo de la enzimuria.

La capacidad de recuperar la función tubular tras la injuria inducida por los aminoglucósidos y la cirugía se ha valorado mediante la diferencia entre el valor máximo

de excreción urinaria y el del día quinto de observación, ponderándolo con aquel valor. Se escoge tal día porque ese es el periodo de tiempo máximo en que han sido observados todos los pacientes. Mientras el régimen de dosificación no se ha demostrado que influya sobre tal capacidad -a diferencia de lo descrito para la fosfolipiduria con la netilmicina⁽¹⁰²⁾- la presencia de cirugía sí altera y retrasa el momento de normalizar la función tubular.

Durante el tratamiento se objetivó la existencia de correlación significativa entre la excreción urinaria de BMG, NAG y natriuresis (r entre 0.29 y 0.37), tal y como había sido descrito anteriormente por otros autores⁽²¹⁷⁾ ⁽²²⁷⁾. La intensidad de tal relación depende de los distintos mecanismos que utiliza la gentamicina para incrementar los niveles urinarios de estos parámetros.

Se ha encontrado correlación significativa entre el valle inicial y en estado estacionario y el pico sérico de gentamicina en el régimen de triple dosis -tanto en pacientes operados como no operados- pero no así en los pacientes que recibieron monodosis. No hemos encontrado razón para ello en la literatura revisada.

Se ha observado asimismo correlación significativa entre los valores basales y máximos de la FENa, FEBMG y NAG, lo que expresa que tienen mayor riesgo de desarrollar toxicidad renal aquellos pacientes con superiores valores de estos parámetros tubulares previo al tratamiento. En base a ello, y dada su dependencia temporal y causal, se han encontrado ecuaciones de regresión lineal con coeficientes r superiores a 0.6 o más para la excreción de NAG y de la FEBMG durante el tratamiento con gentamicina por al menos cinco días y con dosis convencionales -que están representadas en el apartado correspondiente- y que no han sido descritas previamente

CONCLUSIONES

- (1).La excreción urinaria de N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) producida por daño tubular es superior de modo significativo en pacientes que recibieron triple dosis frente a los que se administró monodosis de gentamicina.*
- (2).La fracción de excreción de sodio (FENa) es mayor en regímenes fraccionados que en monodosis de gentamicina.*
- (3).La determinación urinaria de Beta-2-microglobulina (BMG) es menos sensible que la de NAG para detectar la diferente tubulotoxicidad inducida por los dos regímenes de administración del aminoglucósido. Sin embargo se comprueba la existencia de correlación entre la excreción urinaria de ambos marcadores durante el tratamiento con gentamicina, tanto en mono como en triple dosis.*
- (4).La incidencia de toxicidad renal encontrada durante el tratamiento con gentamicina es superior cuando se estudian marcadores tubulares -NAG y BMG- que la apreciada valorando sólo la creatinina sérica.*
- (5).La administración de gentamicina en régimen de monodosis es un método eficaz para el tratamiento de infecciones severas por bacilos gram negativos.*

(6). *Existe correlación entre los valores basales y máximos alcanzados durante el tratamiento con el aminoglucósido de la fracción excrecional de sodio y BMG, así como de la eliminación urinaria de NAG en ambos regímenes de dosificación. Además se han podido establecer curvas de regresión lineal que se aproximan al comportamiento de la excreción tubular de NAG y BMG durante la terapéutica con gentamicina.*

(7). *La determinación urinaria de la NAG y de las fracciones de excreción de la BMG y sodio constituyen marcadores útiles para valorar la función tubular renal durante el tratamiento con aminoglucósidos, y se incrementan de modo significativo desde el primer día.*

(8). *Los niveles séricos de gentamicina son diferentes -en concreto su pico- entre los dos regímenes de administración. Por ello es preciso establecer las concentraciones plasmáticas óptimas para alcanzar la máxima eficacia clínica y microbiológica durante el tratamiento con aminoglucósidos en forma de monodosis.*

(9). *Se ha establecido correlación entre la creatinina y el valle sérico de gentamicina, tanto en mono como en triple dosis. Los pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad en ambos regímenes alcanzaron un valle plasmático significativamente superior que aquellos que no la presentaron.*

BIBLIOGRAFIA

- (1).Gilbert DN. "Aminoglycosides". *En: Principles and practice of infectious disease.* Mandell, Douglas and Bennetts, ed. 4^a ed. McGraw-Hill. 1995; pp: 279-305.
- (2).Dahlgreen JG, Anderson ET, Hewitt WL. "Gentamicin blood levels: a guide to nephrotoxicity". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1975; 8: 58-62.
- (3).Wilson TW, Mahon WA, Inaba T. "Elimination of tritiated gentamicin in normal human subjects and in patients with severely impaired renal fuction". *Clin. Pharmacol. Ther.* 1973; 14: 815-22.
- (4).Kuhar MJ, Mak LL, Lietman PS. "Localization of ³H-gentamicin in the proximal renal tubule of the mouse". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1979; 15: 131-3.
- (5).Beauchamp D, Gourde P, Bergeron MG. "Subcellular distribution of gentamicin in proximal tubular cells, determined by immunogold labeling". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 2173-9.
- (6).Silverblatt FJ, Kuehn C. "Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubular cell". *Kidney Int.* 1979; 15: 335-45.
- (7).Fabre J, Rudhardt M, Blanchard P. "Persistence of sisomicin and gentamicin in renal cortex and medulla compared with other organs and serum of rats". *Kidney Int.* 1976; 10: 444-9.
- (8).Schentag JJ, Jusko WJ. "Renal clearance and tissue accumulation of gentamicin". *Clin. Pharmacol. Ther.* 1977; 22: 364-70.
- (9).Baylis C, Rennke HR, Brenner RM. "Mechanisms of the defect in the glomerular ultrafiltration associated with gentamicin administration". *Kidney Int.* 1977; 12: 344-8.

- (10).Kaloyanides GJ, Ramsammy LS. "Possible role of altered polyamine metabolism in gentamicin toxicity in OK cells". *Contrib. Nephrol.* 1993; 101: 199-205.
- (11).Appel GB. "Aminoglycoside nephrotoxicity". *Am. J. Med.* 1990; 88 (Sup. C): 16-20.
- (12).Tulkens PM. "Experimental studies on nephrotoxicity of aminoglycosides at low doses". *Am. J. Med.* 1986; 80 (Sup. 6B): 105-14.
- (13).Giuliano RA, Verpooten GA, Verbist L, Wedeen RP, De Broe ME. "In vivo uptake kinetics of aminoglycosides in the kidney cortex of rats". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1986; 236: 470-5.
- (14).Lipsky JJ, Cheng L, Sacktor B, Lietman PS. "Gentamicin uptake by renal tubular brush border membrane vesicles". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1980; 215: 390-3.
- (15).Barza M, Murray T, Hamburger RJ. "Uptake of gentamicin by separated, viable renal tubules from rabbits". *J. Infect. Dis.* 1980; 141: 510-7.
- (16).Bennett WM, Plamp CE, Elliot WC, Packer RA, Porter GD. "Effect of basic aminoacids and aminoglycosides on the [³H]-gentamicin uptake in cortical slices of rat and human kidneys" 1982. *J. Lab. Clin. Med.* 99: 156-62.
- (17).Lipsky JJ, Lietman PS. "Neomycin inhibition of adenosine triphosphate: evidence for a neomycin-phospholipid interaction". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1980; 18: 532-5.
- (18).Humes HD. "Aminoglycoside nephrotoxicity". *Kidney Int.* 1988; 33: 900-11.
- (19).Meyer RD. "Risk factors and comparisons of clinical nephrotoxicity of aminoglycosides". *Am. J. Med.* 1986; 80 (Sup 6B): 119-25.

- (20).Wedeen RD, Batuman V, Cheeks EM, Sobel N. "Transport of gentamicin in rat proximal tubule". *Lab. Invest.* 1983; 48: 212-23.
- (21).DeBroe ME, Paulus GJ, Verpooten GA, Roels F, Buysens N, Wedeen R, Van Hoof, Tulkens PM. "Early effects of gentamicin, tobramycin and amikacin on the human kidney". *Kidney Int.* 1984; 25: 643-52.
- (22).Feldman S, Wang M, Kaloyanides GJ. "Aminoglycosides induce aphospholipidosis in the renal cortex of the rat: an early manifestation of nephrotoxicity". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982; 220: 514-20.
- (23).Koalhep S, Bennett J, Leggett J. "Computerized fluorescent videomicroscopy demonstration of the renal cell handling of tobramycin in vitro". *Programs and abstracts of the 29th. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract 293. Washington DC. American Society for Microbiology.* 1989; pp: 385.
- (24).Laurent G, Kishore BK, Tulkens PM. "Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity". *Biochem. Pharmacol.* 1990; 40: 2383-90.
- (25).Bennett WM, Mela-Rikker L, Noughton DC. "Microsomal protein synthesis inhibition: an early manifestation of gentamicin nephrotoxicity". *Am. J. Physiol.* 1988; 225: F 265-9.
- (26).Loveless MO, Kohlepp SJ, Gilbert DN. "The influence of aminoglycoside antibiotics on the in vitro function of rat liver ribosomes". *J. Lab. Clin. Med.* 1984; 103: 294-303.

- (27).DeBroe ME, Giuliano RA, Verpooten GA. "Choice of drug and dosage regimen. Two important risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity". *Am. J. Med.* 1986; 80 (Sup 6B): 115-8.
- (28).Hsu CH, Kurtz TW, Weller JM. "In vitro uptake of gentamicin by rat renal cortical tissue". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1977; 12: 192-4.
- (29).Kluwe WM, Hook JB. "Analysis of gentamicin uptake by rat renal cortical slices". *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1978; 45: 532-9.
- (30).Neugarten J, Aynedjian HS, Bank N. "Role of tubular obstruction in acute renal failure due to gentamicin". *Kidney Int.* 1983; 24: 330-5.
- (31).Cronin RE, Bulger RE, Southern P, Henrich WG. "Natural history of aminoglycoside nephrotoxicity in the dog". *J. Lab. Clin. Med.* 1980; 95: 463-74.
- (32).Hishida A, Nakajima T, Yamada M, Kato A, Honda N. "Roles of hemodynamic and tubular factors in gentamicin-mediated nephropathy". *Ren. Fail.* 1994; 16: 109-16.
- (33).Nakajima T, Hishida A, Kato A. "Mechanism for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats". *Am. J. Physiol.* 1994; 266 (3 Pt 2): F 425-31.
- (34).Rivas Cabanero L, Montero A, Lopez Novoa JA. "Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin-induced renal failure". *Eur. J. Pharmacol.* 1994; 270: 97-103.
- (35).Simmons CF, Bogosky RT, Humes HD. "Inhibitory effects of gentamicin on renal mitochondrial oxidative phosphorylation". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1980; 214: 709-15.

- (36).Ueda N, Guidet B, Shan SV. "gentamicin-induced mobilization of iron from renal cortical mitochondria". *Am. J. Physiol.* 1993; 265: F 435-9.
- (37).Carlier MB, Laurent G, Claes PJ, Vanderhaeghe HJ, Tulkens PM. "Inhibition of lysosomal phospholipases by aminoglycoside antibiotics: comparative studies in vitro". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983; 23: 440-9.
- (38).Giuliano RA, Paulus, GJ, Verpooten GA, Pattyn VM, Pollet DE, Nouwen EJ. "Recovery of cortical phospholipidosis and necrosis after acute gentamicin loading in rats". *Kidney Int.* 1984; 26: 838-47.
- (39).Sawyers CL, Moore RD, Lerner SA. "A model for predicting nephrotoxicity in patients treated with aminoglycosides". *J. Infect.Dis.* 1986; 153: 1062-8.
- (40).Bennett WM, Plamp CE, Gilbert DN, Parker RA, Porter GA. "The influence of a dosage on experimental gentamicin nephrotoxicity dissociation of peak serum levels from renal failure". *J. Infect. Dis.* 1979; 140: 576-80.
- (41).Moore RD, Smith CR, Lipsky JJ, Mellits ED, Lietman PS. "Risk factors for nephrotoxicity in patients treated with aminoglycosides". *Ann. Int. Med.* 1984; 100: 325-7.
- (42).Tulkens PM. "Pharmacokinetic and toxicological evaluation of a once-daily regimen versus conventional schedules of netilmicin and amikacin". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup C): 49-61.
- (43).Smith CR, Baughman KI, Edwards CQ. "Controlled comparison of amikacin and gentamicin". *N. Engl. J. Med.* 1977; 296: 349-53.
- (44).Kumin GD. "Clinical nephrotoxicity of tobramycin and gentamicin: a prospective study". *JAMA.* 1980; 244: 1808-10.

- (45).Lerner AM, Schmitt BA, Seligsohn R. "Comparative study of ototoxicity and nephrotoxicity in patients randomly assigned treatment with amikacin and gentamicin". *Am. J. Med.* 1986; 80 (Sup 6B): 98-104.
- (46).Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB. "Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study". *Am. J. Med.* 1983; 74: 243-8.
- (47).Keys TF, Kurtz SB, Jones JD, Muller SM. "Renal toxicity during therapy with gentamicin or tobramycin". *Mayo Clin. Proc.* 1981; 56: 556-9.
- (48).Kahlmeter G, Dahlager JL. "Aminoglycoside toxicity: a review of clinical studies published between 1975 and 1982". *J. Antimicrob. Chemother.* 1984; 13 (Sup A): 9-22.
- (49).Bertino JS, Booker LA, Franck PA. "Incidence of significant risk factors for aminoglycoside associated nephrotoxicity in patients dosed by using individualized pharmacokinetic monitoring". *J. Infect. Dis.* 1993; 167: 173-9.
- (50).Matzke GR, Lucarotti RL, Shapiro HW. "Controlled comparison of gentamicin and tobramycin nephrotoxicity". *Am. J. Nephrol.* 1983; 3: 11-7.
- (51).Kidwell DT, Mckeown JW, Grider JS, McCombs GB, Ott CE, Jackson BA. "Acute effects of gentamicin on thick ascending limb function in the rat". *Eur. J. Pharmacol.* 1994; 270: 97-103.
- (52).Keating MJ, Bodey GD, Valdivieso M, Rodriguez V. "A randomized comparative trial of three aminoglycosides -comparison of continuous infusion of gentamicin, amikacin and sisomicin combined with carbenicillin in the treatment of infections in neutropenic patients with malignancies". *Medicine (Baltimore).* 1979; 59: 159-70.

- (53).Plaut ME, Schentag JJ, Jusko WJ. "Aminoglycoside nephrotoxicity: comparative assessment in critically ill patients". *J. Med.* 1979; 10: 257-66.
- (54).Smith CR, Lipsky JJ, Laskin OL. "Double blind comparison of the nephrotoxicity and auditory toxicity of gentamicin and tobramycin". *N. Engl. J. Med.* 1980; 302: 1106-9.
- (55).French MA, Cerra FB, Plaut ME, Schentag JJ. "Amikacin and gentamicin accumulation: pharmacokinetics and nephrotoxicity in critically ill patients". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981; 19: 147-52.
- (56).Schentag JJ, Plaut ME, Cerra FB. "Comparative nephrotoxicity of gentamicin and tobramycin: pharmacokinetic and clinical studies in 201 patients". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981; 19: 859-66.
- (57).Feig PU, Mitchell PP, Abrutyn E, Brock SM, Carney WR, Graeber CW, Horak E, Lyons RW, Maher JF. "Aminoglycoside nephrotoxicity: a double blind prospective randomized study of gentamicin and tobramycin". *J. Antimicrob. Chemother.* 1982; 10: 217-26.
- (58).Holm SE, Hill B, Lowestad A, Maller R, Vikerfors T. "A prospective, randomized study of amikacin and gentamicin in serious infections with focus on efficacy, toxicity and duration of serum levels above the MIC". *J. Antimicrob. Chemother.* 1983; 12: 393-402.
- (59).Aronoff GR, Pottratz SC, Brier ME, Walker NE, Fineberg NS, Glant MD, Luft FC. "Aminoglycoside accumulation kinetics in rat renal parenchyma". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983; 23: 74-8.

- (60).Brier ME, Mayer PR, Brier RA. "Relationship between rat renal accumulation of gentamicin, tobramycin and netilmicin and their nephrotoxicities". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 27: 8121-6.
- (61).Contrepois A, Brion N, Garaud JJ, Faurisson F, Delatour F, Levy JC, Deybach JC, Carbon C. "Renal disposition of gentamicin, dibekacin, tobramycin, netilmicin and amikacin in humans". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 27: 520-4.
- (62).Giuliano RA, Verpooten GA, De Broe ME. "The effect of dosing strategy on kidney cortical accumulation of aminoglycosides in rats". *Am. J. Kidney Dis.* 1986; 8: 297-303.
- (63).Turnover T, Bezek S, Kallay Z, Durisova M, Navarova J. "Non linear accumulation of gentamicin in guinea-pig kidney". *J. Antimicrob. Chemother.* 1984; 14: 543-8.
- (64).Marche P, Koutouzov A, Girard A. "Impairment of membrane phosphoinositide metabolism by aminoglycoside antibiotics: streptomycin, amikacin, kanamycin, dibekacin, gentamicin and neomycin". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1983; 227: 415-20.
- (65).Josepovitz C, Pastoriza Muñoz E, Timmerman D, Scott M, Feldman S, Kaloyanides GJ. "Inhibition of gentamicina uptake in rat renal cortex in vivo by aminoglycosides and organic polycations". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982; 223: 314-21.
- (66).Hottendorf GH, Gordon LL: "Comparative low-dose nephrotoxicities of gentamicin, tobramycin and amikacin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1980; 18: 176-81.

- (67).Bennett WM, Plamp CE, Gilbert DN, Parker RA, Porter GA. "The influence of dosage regimen on experimental gentamicin nephrotoxicity dissociation of peak serum levels from renal failure". *J. Infect. Dis.* 1979; 140: 576-80.
- (68).Vogelman B, Gudmundsson S, Leggett J, Turnidge J, Ebert S, Craig WA. "Correlation of antimicrobial pharmacokinetic parameters with therapeutic efficacy in an animal model". *J. Infect. Dis.* 1988; 158: 831-47.
- (69).Kunin CM. "Dosage schedules of antimicrobial agents: a historical review". *Rev. Infect. Dis.* 1981; 3: 4-11.
- (70).Vogelman B, Craig WA. "Kinetics of antimicrobial activity". *J. Pediatr.* 1986; 108: 835-40.
- (71).Blaser J, Stone BB, Zinner SH. "Efficacy of intermittent versus continuous administration of netilmicin in a new two compartment in vitro model". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 27: 343-9.
- (72).Gerber AU, Craig WA, Brugger HP, Feller C, Vastola AP, Brandel J. "Impact of dosing interval on activity of gentamicin and ticarcillin against *Pseudomonas aeruginosa* in granulocytopenic mice". *J. Infect. Dis.* 1983; 147: 910-7.
- (73).Craig WA. "Selecting the antibiotic". *Hosp. Pract. (Off. Ed.)*. 1993; 28 (Sup. 1): 16-20.
- (74).Jackson GE, Lolans VT, Daikos GL. "The inductive role of ionic binding in the bactericidal and postexposure effects of aminoglycoside antibiotics with implications for dosing". *J. Infect. Dis.* 1990; 162: 408-13.

- (75).Moore RA, Bates NC, Hancock REW. "Interaction of polycationic antibiotics with *Pseudomona aeruginosa* lipopolysaccharide and lipid A studied by using dansyl-polimyxin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986; 29: 496-500.
- (76).Damper PD, Epstein W. "role of the membrane potential in bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981; 20: 803-8
- (77).Bryan LE, Van den Elzen. "Effects on membrane-energy mutations and cations on streptomycin and gentamicin accumulation by bacteria: a model for entry of streptomycin and gentamicin in susceptible and resistant bacteria". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1977; 12: 163-77.
- (78).Davis BD. "Mechanisms of bactericidal action of aminoglycosides". *Microbiol. Rev.* 1987; 51: 341-50.
- (79).Kadurugamuwa JL, Lam JS, Beveridge TJ. "Interaction of gentamicin with the A band lipopolysaccharides of *Pseudomona aeruginosa* and its possible lethal effect". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37: 715-21.
- (80).Bryan LE, Kawan S. "Roles of ribosomal binding, membrane potential and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983; 23: 835-45.
- (81).Bastone EB, Li SC, Ioannides-Demos LL, Spicer WJ, McLean AJ. "Kill kinetics and regrowth patterns of *Escherichia Coli* exposed to gentamicin concentration-time profiles simulating in vivo bolus and infusion dosing". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37: 914-7.

- (82).MacArthur RD, Lolans V, Zar FD, Jackson GG. "Biphasic, concentration dependent and rate limited, concentration independent bacterial killing by an aminoglycoside antibiotic". *J. Infect. Dis.* 1984; 150: 778-9.
- (83).Staneva M, Markova B, Atanasova I, Terziivanov D. "Pharmacokinetic and pharmacodynamic approach to comparing two therapeutic regimen using amikacin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 981-5.
- (84).Gerber AU, Felder-Segessenmann C. "In vivo assessment of in vitro killing patterns of *Pseudomona aeruginosa*". *J. Antimicrob. Chemother.* 1985; 15 (Sup A): 201-6.
- (85).Kapusnik JE, Hackbarth CJ, Chambers HF, Carpenter T, Sande MA. "Single, large, daily dosing versus intermittent dosing of tobramycin for treating experimental *Pseudomona pneumonia*". *J. Infect. Dis.* 1988; 158: 7-12.
- (86).Wood CA, Norton DR., Kohlhepp SJ, Kohnen PV, Porter GA, Haughton DC, Brummett RE, Bennett WM, Gilbert DN. "The influence of tobramycin dosage regimens on nephrotoxicity, ototoxicity and antibacterial efficacy in a rat model of subcutaneous abscess". *J. Infect. Dis.* 1988; 158: 13.22.
- (87).Queiroz MLS, Bathirunathan N, Mawer GE. "Influence of dosage interval on the therapeutic response to gentamicin in mice infected with *Klebsiella pneumoniae*". *Chemotherapia.* 1987; 33: 68-76.
- (88).Pennington JE, Reynolds HY. "Pharmacokinetics of gentamicin sulfate in bronchial secretions". *J. Infect. Dis.* 1975; 131: 158-62.
- (89).Nix DE, Goodwin SD, Peloquin CA, Rotella DL, Schentag JJ. "Antibiotic tissue penetration and its relevance": impact of tissue penetration on infection response". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 1953-9.

- (90).Zaske DE, Cipolle RJ, Rotschafer JC, Solem LD, Mosier NR, Strate RG. "Gentamicin pharmacokinetics in 1640 patients: method for control of serum concentrations". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1982; 21: 407-11.
- (91).Rotschafer JC, Zabinsky RA, Walker KJ. "Pharmacodynamic factors of antibiotic efficacy". *Pharmacotherapy.* 1992; 12: S 64-70.
- (92).Tholl DA, Shimuka LR, Miller TQ, Woodward JMB, Cerra FB, Zaske DE. "Physiologic response of stress and aminoglycoside clearance in critically ill patients". *Crit. Care Med.* 1993; 21: 248-51.
- (93).Noone P, Parsons TM, Pattison JR, Slack RC, Garfield-Davies D, Huen K. "Experience of monitoring gentamicin therapy during treatment of serious gram-negative sepsis". *Br. Med. J.* 1974; 1: 477-81.
- (94). Moore RD, Leitman P, Smith CR. "Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimum inhibitory concentration". *J. Infect. Dis.* 1987; 155: 93-7.
- (95). Van der Auwera P. "Pharmacokinetic evaluation of single dose amikacin". *J. Antimicrob. Chemother.* 1981; 8: 429-45.
- (96).Rotschafer JC, Rybak MJ. "Single daily dosing of aminoglycosides: a commentary". *Ann. Pharmacother.* 1994; 28: 797-801.
- (97).Tally FP, Louie TJ, Weinstein WM, Bartlett JG, Gorbach SL. "Amikacin therapy for severe gram-negative sepsis: emphasis on infections with gentamicin-resistant organisms". *Ann. Intern. Med.* 1975; 83: 484-8.
- (98).Anderson CT, Young LS, Hewitt WL. "simultaneous antibiotic levels in breakthrough gram-negative rod bacteremia". *Am. J. Med.* 1976; 61: 493-7.

- (99).Sculier JP, Klastersky J. "Significance of serum bactericidal activity in gram negative bacillary bacteremia in patients with and without granulocytopenia". *Am. J. Med.* 1984; 76: 429-35.
- (100).Moore RD, Smith CR, Lietman PS. "The association of aminoglycoside plasma levels with mortality in patients with gram-negative bacteremia". *J. Infect. Dis.* 1984; 149: 443-8.
- (101).Van der Auwera P, Meunier F, Ibrahim S, Kaufman L, Derde MP, Tulkens PM. "Pharmacodynamic parameters and toxicity of netilmicin (6 milligrams / kilogram/ day) given once daily or in three divided doses to cancer patients with urinary tract infection". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 640-7.
- (102).McDonald PJ, Craig WA, Kunin CM. "Persistent effect of antibiotics on *Staphylococcus aureus* after exposure for limited periods of time". *J. Infect. Dis.* 1977; 135: 217-33.
- (103).Vogelman BS, Craig WA. "Postantibiotic effects". *J. Antimicrob. Chemother.* 1985; 15 (Sup. A): 37-46.
- (104).Minguez F, Prieto J. "Efecto postantibiótico". *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1993; 11: 147-55.
- (105).Gottfredsson M, Erlendsdottir H, Kolka R, Gudmundsson A, Gudmundsson S. "Ultrastructural alterations of bacteria during the postantibiotic effect". *Chemotherapy.* 1993; 39: 153-62.
- (106).Vogelman B, Gudmundsson S, Turnidge J, Leggett J, Craig WA. "In vivo postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice". *J. Infect. Dis.* 1988; 157: 287-98.

- (107).Minguez F, Izquierdo J, Martin MM, Fuentes F, Prieto J. "In vivo postantibiotic effect of isipamicin and other aminoglycosides in a thigh infection model in neutropenic mice". *Chemotherapy*. 1992; 38: 179-84.
- (108).Craig WA, Gudmundsson S. "Postantibiotic effect". En: Lorian V, ed. "Antibiotics in Laboratory Medicine". Williams & Wilkins. 1991;pp: 403-31.
- (109).Bundtzen BW, Gerber AU, Cohn DL, Craig WA. "Postantibiotic suppression of bacterial growth". *Rev. Infect. Dis*. 1981; 3: 28-37.
- (110).Gudmundsson A, Erlendsdottir H, Gottfredsson M, Gudmundsson S. "Impact of pH and cationic supplementation on in vitro post-antibiotic effect". *Antimicrob. Agents Chemother*. 1991; 35: 2617-24.
- (111).McGrath BJ, Marchbanks R, Gilbert D, Dudley MN. "In vitro postantibiotic effect following repeated exposure to imipenem, tenaflloxacin and tobramycin". *Antimicrob. Agents Chemother*. 1993; 37: 1723-5.
- (112).Karlowsky JA, Zhanel GG, Davidson RJ, Hoban DJ. "Postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa* following single and multiple aminoglycoside exposures in vitro". *J. Antimicrob. Chemother*. 1994; 33: 937-47.
- (113).Turnidge JD, Gudmundsson S, Craig WA. "Postantibiotic effect (PAE) of antifungal agents against common pathogenic yeasts". *Programs and abstracts of the 22th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Abstract 491. Washington DC. American Society for Microbiology. 1982.
- (114).Gerber AU, Wiprachtiger P, Stettler Spichiger U, Lebek G. "Constant infusion vs. intermittent doses of gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro". *J. Infect. Dis*; 1982: 554-60.

- (115).Hessen MT, Pitsakis PG, Levison ME. "Absence of a postantibiotic effect in experimental *Pseudomona endocarditis* treated with imipenem, with or without gentamicin". *J. Infect. Dis.* 1988; 158: 542-8.
- (116).Yeaman MR, Norman DC, Bayer AS. "Platelet microbicidal protein enhances antibiotic-induced killing and postantibiotic effect in *Staphylococcus aureus*". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992; 36: 1665-70.
- (117).Park MK, Myers RA, Marzella L. "Hyperoxia and prolongation of aminoglycoside-induced postantibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*: role of reactive oxygen species". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37:120-2.
- (118).Minguez F, Ramos C, Barrientos S, Lurueña S, Loscos A. "Influencia de diversos factores sobre el efecto postantibiótico y la actividad antimicrobiana de ciprofloxacino". *Rev. Esp. Quimioter.* 1990; 3: 229-34.
- (119).Baquero F, Culebras E, Patrón C, Pérez Diaz JC, Medrano JC, Vicente MF. "Postantibiotic effect of imipenem on Gram-positive and Gram-negative microorganisms". *J. Antimicrob. Chemother.* 1986; 18 (Sup. E): 47-59.
- (120).Minguez F, Aparicio P, Lurueña S, Cabronero MJ, Prieto J. "Influencia de las asociaciones bacterianas sobre el efecto postantibiótico". *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1990; 8: 208-12.
- (121).McGrath BJ, Lamp KC, Rybak MJ. "Pharmacodynamic effects of extended dosing intervals of imipenem alone and in combination with amikacin against *Pseudomona aeruginosa* in an in vitro model". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37: 1931-7.

- (122).Pruul H, Hill N, McDonald PJ. "Enoxacin-induced alteration of susceptibility of pneumococci and pseudomonas to phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes". *J. Antimicrob. Chemother.* 1984; 14 (Sup. C): 19-31.
- (123).Craig WA. "Post-antibiotic effects in experimental infection models: relationship to in-vitro phenomena and to treatment of infections in man". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 31 (Sup D): 149-58.
- (124).Pruul H, Wetherall ML, McDonald PJ. "Enhanced susceptibility of Escherichia Coli to intracellular killing by human polymorphonuclear leukocytes after in vitro incubation with chloramfenico". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981; 19: 945-51.
- (125).Gudmundsson S, Einarsson S, Erlendsdottir H, Moffat J, Bayer W, Craig WA. "The postantibiotic effect of antimicrobial combinations in a neutropenic murine thigh infection model". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 31 (Sup D): 177-91.
- (126).Rodman DP, Maxwell AJ, Mckinght JT. "Extended dosage intervals for aminoglycosides". *Am. J. Hosp. Pharm.* 1994; 51: 2016-21.
- (127).Lorian V. "Effects of subminimum inhibitory concentration of antibiotics on bacteria". En Lorian, ed. "Antibiotics in Laboratory Medicine". Williams & Wilkins. 1980; pp:342-408.
- (128).Daikos GL, Jackson GE, Lolans VT. "Adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics from first-exposure down-regulation". *J. Infect. Dis.* 1990; 162: 414-20.

- (129).Shaw KJ, Bather PN, Hare RS. "Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationship of the aminoglycoside-modifying enzymes". *Microbiol. Rev.* 1993; 57: 138-63.
- (130).Bryan LE, Nicas T, Holloway BW, Crowther C. "Aminoglycoside-resistant mutation of *Pseudomonas aeruginosa* defective in cytochrome C₅₅₂ and nitrate reductase". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1980; 17: 71-9.
- (131).Peddie BA, Chambers ST. "Effects of betaine and urine on the antibacterial activity of aminoglycosides". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 31: 481-8.
- (132).Gerber AU, Vastola AP, Brandel J, Craig WA. "Selection of aminoglycoside-resistant variants of *Pseudomonas aeruginosa* in an in vivo model". *J. Infect. Dis.* 1982; 146: 691-7.
- (133).Leviton IM, Fraimow HS, Carrasco N, Miller MN. "Aminoglycoside uptake in *E.Coli* vesicles". *Programs and abstracts of the 29 th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract 1311. Washington DC. American Society for Microbiology.* 1989.
- (134).Daikos GL, Lolans VT, Jackson GG. "First-exposure adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics in vivo with meaning for optimal clinical use". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 117-23.
- (135).Verpooten GA, Giuliano RA, Verbist L. "Once-daily dosing decreases renal accumulation of gentamicin and netilmicin". *Clin. Pharmacol. Ther.* 1989; 45: 22-7.
- (136).Verpooten GA, Giuliano RA, Pattyn VM, Schardé SL, DeBroe ME. "Renal cortical uptake kinetics of gentamicin in rats with impaired renal function". *Am. J. Kidney Dis.* 1986; 8: 304-7.

- (137).Sastrasinh M, Knauss TC, Weinberg JM, Humes MD. "Identification of the aminoglycoside binding site in rat renal brush border membranes". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982; 222: 350-8.
- (138).Bennett WM, Wood CA, Houghton DC, Gilbert DN. "Modification of experimental aminoglycoside nephrotoxicity". *Am. J. Kidney Dis.* 1986; 8: 292-6.
- (139).Levison ME, Bush LM. "Pharmacodynamics of antimicrobial agents: bactericidal and postantibiotic effects". *Infect. Dis. Clin. North Am.* 1989; 3: 415-21.
- (140).Karlowsky JA, Zhanel GG, Davidson Ross J, Hoban DJ. "Once daily aminoglycoside dosing assessed by MIC reversion time with *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 1165-8.
- (141).Blaser J, Stone BB, Gruner NC, Zinner SH. "Comparative study with enoxacin and netilmicin in a pharmacodynamic model to determine importance of the ratio of antibiotic peak concentration to MIC for bactericidal activity and emergence of resistance". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987; 31: 1054-60.
- (142).Powell SH, Thompson WL, Luthe MA, Stern RC, Grossniklaus DA, Bloxham DD. "Once daily versus continuous aminoglycoside dosing: efficacy and toxicity in animal and clinical studies of gentamicin, netilmicin and tobramycin". *J. Infect. Dis.* 1983; 147: 918-32.
- (143).Herscovici L, Grise G, Thauvin C, Lemeland JF, Fillastre JP. "Efficacy and safety of once daily versus intermittent dosing of tobramycin in rabbits with acute pyelonephritis". *Scand. J. Infect. Dis.* 1988; 20: 205-12.

- (144). Gerber AU, Kozak S, Segessenmann C, Fluckiger U, Bangerter T, Greter U. "Once daily versus thrice daily administration of netilmicin in combination therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a man adapted neutropenic animal model". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1989; 8: 233-7.
- (145). Roosendaal R, Bakker-Woudenberg IAJ, Berghe van Raffe M, Berg JCV, Michel MF. "Impact of the dosage schedule on the efficacy of ceftazidime, gentamicin and ciprofloxacin on *Klebsiella pneumoniae* pneumonia and septicemia in leukopenic rats". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1989; 8: 878-87.
- (146). Mordenti JJ, Quintillani R, Nightingale CH. "Combination antibiotic therapy: comparison of constant infusion and intermittent bolus dosing in an experimental animal model. *J. Antimicrob. Chemother.* 1985; 15 (Sup. A): 313-21.
- (147). Gerber AU, Brugger HP, Feller C, Stritzko T, Stalder B. "Antibiotic therapy of infections due to *Pseudomonas aeruginosa* in normal and granulocytopenic mice: comparison of murine and human pharmacokinetics". *J. Infect. Dis.* 1986; 153: 90-7.
- (148). Frame PT, Phair JD, Watanakunakorn C, Bannister TWP. "Pharmacological factors associated with gentamicin nephrotoxicity in rabbits". *J. Infect. Dis.* 1977; 135: 952-7.
- (149). Thompson WL, Reiner NE, Bloxham DD. "Gentamicin and tobramycin nephrotoxicity in dogs on continuous or once-daily intravenous injection". *Proceedings of the International Congress of Chemotherapy.* 1977; 10: 207.

- (150).Nishi T, Tsuchiya K. "Experimental respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice: chemotherapy with kanamycin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1980; 17: 494-505.
- (151).Leggett J, Fantin B, Ebert S, Totsuka K, Vogelmann B, Calame W, Mattie H, Craig WA. "Comparative antibiotic dose-effect relations at several dosing intervals in murine pneumonitis and thigh infection models". *J. Infect. Dis.* 1989; 159: 281-92.
- (152).Blaser J. "Efficacy of once and thrice daily dosing of aminoglycosides in in-vitro models of infection". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 21-28.
- (153).Labovitz E, Levison ME, Kaye D. "Single-dose daily gentamicin therapy in urinary tract infection". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1974; 6: 465-70.
- (154).Feld R, Valdivieso M, Bodey GP, Rodriguez VA. "A comparative trial of sisomicin therapy by intermittent versus continuous infusion". *Am. J. Med. Sci.* 1977; 274: 179-88.
- (155).Bodey GP, Ketchel SJ, Rodriguez V. "A randomized study of carbenicillin plus cefamandol or tobramycin in the treatment of febrile episodes in cancer patients". *Am. J. Med.* 1979; 67: 608-16.
- (156).Feld R, Tuffnell PG, Curtis KE, Messner HA, Hasselback R. "Empiric therapy for infections in granulocytopenic cancer patients: continuous infusion of amikacin plus cephalotin". *Arch. Intern. Med.* 1979; 139: 310-4.

- (157).Feld R, Rachlis A, Tuffnell PG, Duncan I, Moran L, Pinfold P, DeBoer G. "Empiric therapy for infections in patients with granulocytopenia. Continuous versus interrupted infusion of tobramycin plus cefamandole". *Arch. Intern. Med.* 1984; 144: 1005-10.
- (158).Petty BG, Baumgardner JV, Leitman PS. "Comparison of the renal effects of single versus thrice daily dosing in healthy volunteers". *Program and abstracts of the 26th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract 30. Washington DC. American Society for Microbiology.* 1986; pp: 6.
- (159).Khan AJ, Kumar K, Evans HE. "Single dose gentamicin therapy of recurrent urinary tract infection in patients with normal urinary tracts". *J. Pediatr.* 1987; 110: 131-5.
- (160).Shankar A, Sharma SD. "Gentamicin as once-daily dose therapy in recurrent urinary tract infections in children". *Curr. Ther. Res.* 1987; 41: 599-603.
- (161).Proctor L, Petty BG, Leitman P, Thakor R, Glackin R, Shimizu H. "A study of potential vestibulotoxic effects of once daily versus thrice daily administration of tobramycin". *Laryngoscope.* 1987; 97: 1443-9.
- (162).Hansen M, Achen F, Carstensen F, Coolidge J, Dahlager J, Frimodt-Moller N. "Once versus thrice daily dosing of netilmicin in febrile immunocompromised patients: a randomized, controlled study of efficacy and safety". *J. Drug Develop. 1988; 1: 119-24.*
- (163).Maller R, Isaksson B, Nilsson K, Soren L. "A study of amikacin given once versus thrice daily in serious infections". *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 22: 75-9.

- (164).Grimwood K, Abbott GD, Fergusson DM. "Single-dose gentamicin treatment of urinary infections in children". *N. Z. Med. J.* 1988; 101: 539-41.
- (165).Pierre C, Blanchet F, Seta N, Chaigne P, Labarre C, Sterkers O. "Tolerance of once daily dosing of netilmicin and teicoplanin alone or in combination in healthy volunteers". *Clin. Pharmacol. Ther.* 1988; 44: 458-66.
- (166).Fan ST, Lau WY, Teoh Chan CH, Lau KF, Mauracher EH. "Once daily administration of netilmicin compared with thrice daily, both in combination with metronidazole, in gangrenous and perforated appendicitis". *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 22: 69-74.
- (167).Tulkens PM, Clericx Braun F, Dounez J, Ibrahim S, Kallay Z, Delmee M. "Safety and efficacy of aminoglycosides once-a-day: experimental data and randomized, controlled evaluation in patients suffering from pelvic inflammatory disease". *J. Drug. Develop.* 1988; 1 (Sup 3): 71-82.
- (168).Mauracher EU, Lau WY. "Comparison of once daily and thrice daily netilmicin regimens in serious systemic infections: a multicenter study in six Asian countries". *Clin. Ther.* 1989; 11: 604-13.
- (169).Sturm AW. "Netilmicin in the treatment of gram negative bacteremia: single daily versus multiple daily dosage". *J. Infect. Dis.* 1989; 159: 931-7.
- (170).Hollender LF, Bannini J, De Manzini N, Lau WY, Fan ST, Hermansyur K. "A multicentre study of netilmicin once daily versus thrice daily in patients with appendicitis and other intra-abdominal infections". *J. Antimicrob. Chemother.* 1989; 23: 773-84.

- (171).De Vries PJ, Verkooyen RP, Leguit P, Verbrugh HA. "Prospective randomized study of once-daily versus thrice daily netilmicin regimens in patients with intra-abdominal infections". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1990; 9: 161-8.
- (172).Nordstrom L, Ringberg H, Cronberg S, Tjernstrom O, Walder M. "Does administration of an aminoglycoside in a single daily dose affect its efficacy and toxicity?". *J. Antimicrob. Chemother.* 1990; 25: 159-73.
- (173).Ter Braak EW, De Vries PJ, Bouter KP, Van der Vegt SG, Dorrestein GE, Nortier JW. "Once daily dosing regimen for aminoglycoside plus beta-lactam combination therapy for serious infections: comparative trial with netilmicin plus ceftriaxone". *Am. J. Med.* 1990; 89: 58-66.
- (174).Ibrahim S, Derde MP, Kaufman L, Clerckx-Braun F, Jacquin P, Brulein V, Donnez J, Tulkens PM. "Safety, pharmacokinetics and efficacy of once-a-day netilmicin and amikacin versus their conventional schedules in patients suffering from pelvic inflammatory disease". *Ren. Fail.* 1990; 199-203.
- (175).Viscoli C, Dudley M, Ferrea G, Castagnola E, Barretta MA, Lanino E, Loy A, Moroni C, Somenzi M, Stura M, Pozzo L. "Serum concentration and safety of single daily dosing of amikacin in children undergoing bone marrow transplantation". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 113-20.
- (176).Kafetzis DA, Sianidou L, Viachos E, Dauros J, Bairamis T, Papandreu Y, Paraskaki E, Scouraliakou M, Hadzis A, Papadatos J. "Clinical and pharmacokinetic study of a single daily dose of amikacin in paediatric patients with severe Gram negative patients". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup C): 105-12.

- (177).Giamarellou H, Yiallourus K, Petrikkos G, Moschovakis E, Vavouraki E, Voutsinas D, Sfikakis P. "Comparative kinetics and efficacy of amikacin administered once or twice daily in the treatment of systemic gram-negative infections". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 73-80.
- (178).International Antimicrobial Therapy Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. "Single versus multiple daily doses of amikacin combined with ceftriaxone or ceftazidime for empirical therapy of fever in granulocytopenic cancer patients". Program and abstract of the Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Abstract 1157. Chicago. American Society for Microbiology. 1991.
- (179).Maller R, Ahrne H, Eilard T, Eriksson I, Lausen I. "Efficacy and safety of amikacin in systemic infections when given as a single daily dose or in two divided doses". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 121-8.
- (180).Marik PE, Lipman J, Kobilsky S, Scribante J. "A prospective randomized study comparing once versus twice daily amikacin dosing in critically ill adult and paediatric patients". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 28: 753-64.
- (181).Marik PE, Havlik I, Monteagudo SE, Lipman J. "The pharmacokinetics of amikacin in critically ill adults and paediatric patients: comparison of once versus twice daily dosing regimen". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 81-90.
- (182).Beaucaire G, Leroy O, Beuscart C, Karp P, Chidiac C, Caillaux M. "Clinical and bacteriological efficacy and practical aspects of amikacin given once daily for severe infections". *J. Antimicrob. Chemother.* 1991; 27 (Sup. C): 91-103.

- (183).Vigano A, Principi N, Brivio L. "Comparison of 5 mg of netilmicin per kilogram of body weight once daily versus 2 mg per kilogram thrice daily for treatment of gram-negative pyelonephritis in children". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992; 36: 1499-503.
- (184).Mendes da Costa P, Kaufman L. "Amikacin once daily plus metronidazole versus amikacin twice daily plus metronidazole in colorectal surgery". *Hepatogastroenterology.* 1992; 39: 350-4.
- (185).Antimicrobial Therapy Cooperative Group of the European Organization for the Research and Therapy of Cancer. "Efficacy and toxicity of single daily doses of amikacin and ceftriaxone versus multiple daily doses of amikacin and ceftazidime for infection in patients with cancer and granulocytopenia". *Ann. Intern. Med.* 1991; 119: 584-93.
- (186).Rozdzinski E, Kern WV, Reichle A. "Once-daily versus thrice daily dosing of netilmicin in combination with beta-lactam antibiotics as empiric therapy for febrile neutropenic patients". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 31: 585-98.
- (187).Heininger U, Bowing B, Stehr K, Solbach W. "Aminoglycosides in patients with mucoviscidosis and pulmonary exacerbation . Comparison of once or three times daily administration". *Clin. Pediatr.* 1993; 205: 18-22.
- (188).Vanhaeverbeek M, Siska G, Douchamps J, Herchuelz A. "Comparison of the efficacy and safety of amikacin once or twice-a-day in the treatment of severe gram-negative infections in the elderly". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 31: 185-7.
- (189).Prins JM, Buller HR, Kuijper EJ. "Once versus thrice daily gentamicin in patients with serious infections". *Lancet.* 1993; 341: 335-9.

- (190).Wagner BP, Pfenninger J. "Once daily dosing of netilmicin in neonatal and paediatric intensive care". *Intensive Care Med.* 1994; 20: 365-7.
- (191).Schardijn GHC, Stadius van Eps LW. " β_2 -microglobulin: its significance in the evaluation of renal function". *Kidney Int.* 1987; 32: 1461-4.
- (192).Hall PW, Ricanatti ES. "Renal handling of the β_2 -microglobulin in renal disorders; with special reference to hepatorenal syndrome". *Nephron.* 1981; 27: 6-6.
- (193).Schardijn G, Stadius van Eps LW, Swaak AJG, Kager JCGM, Persijn JP. "Urinary β_2 -microglobulin in upper and lower urinary tract infection". *Lancet.* 1979; 1: 805-7.
- (194).Wibell L, Karlsson A. "Urinary excretion of β_2 -microglobulin after the induction of a diuresis. A study in healthy subjects". *Nephron.* 1976; 17: 343-52.
- (195).Walenkamp GHIM, Vree TB, Guelen PJM, Jongman-Nix B. "Interaction between the renal excretion rates of β_2 -microglobulin and gentamicin in man". *Clin. Chim. Acta.* 1983; 127: 229-38.
- (196).Parviainen MT, Ylitalo P. "Immunonephelometric determination of retinol-binding protein in serum and urine". *Clin. Chem.* 1983; 29: 853-6.
- (197).Floege J, Wilks MF, Soose M, Kotzerke J, Shaldon S, Koch KM. "Renal elimination of beta-2 microglobulin and myoglobin in patients with normal and impaired renal function". *Nephron.* 1990; 55: 361-7.
- (198).Cabrera J, Arroyo V, Ballesta AM. "Aminoglycoside nephrotoxicity in cirrhosis: value of urinary beta-2 microglobulin to discriminate functional renal failure from acute tubular damage". *Gastroenterology.* 1982; 82: 97-105.

- (199).Kepczyk T, Ryan PJ, McAllister K, Otraje J. "The absence of nephrotoxicity and differential nephrotoxicity between tobramycin and gentamicin". *South. Med. J.* 1990; 83: 1149-52.
- (200).Schentag JJ, Plaut ME. "Patterns of urinary β_2 -microglobulin excretion in patients with aminoglycosides". *Kidney Int.* 1980; 17: 654-61.
- (201).Sethi K, Diamond L. "Aminoglycoside nephrotoxicity and its predictability". *Nephron.* 1981; 27: 265-70.
- (202).Gatell JM, San Miguel JG, Zamora L, Araujo V, Castells C, Moreno A, Jimenez de Anta MT, Marin JL, Elena M, Ballesta A. "Tobramycin and amikacin nephrotoxicity. Value of serum creatinine versus urinary concentration of β_2 -microglobulin". *Nephron.* 1985; 41: 337-43.
- (203).Schentag JJ, Sutfin TA, Plant ME, Jusko WJ. "Early detection of aminoglycoside nephrotoxicity with urinary β_2 -microglobulin". *J. Med.* 1978; 9: 201-10.
- (204).Assadi FK, Chow-Tung E. "Renal handling of beta-2 microglobulin in neonates treated with gentamicin". *Nephron.* 1988; 49: 114-8.
- (205).Boye-Hansen P, Dalhoff K, Joffe P, Olesen B. "Fractional excretion of beta-2 microglobulin in the urine of patients with normal or reduced renal function and hepatic coma". *Scand. J. Gastroenterol.* 1991; 26: 36-42.
- (206).Schentag JJ. "Specificity of renal tubular damage criteria for aminoglycoside nephrotoxicity in critically ill patients". *J. Clin. Pharmacol.* 1983; 23: 473-83.
- (207).Ylitalo P, Morsky P, Parviainen MT, Koivula T. "Nephrotoxicity of tobramycin. Value of examining various protein and enzyme markers". *Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 1991; 13: 281-7.

- (208).Jantusch BA, Rifai N, Getson P, Akram S, Masd M, Wiedermann BL. "Urinary N-acetyl-beta- glucosaminidase and beta-2-microglobulin in the diagnosis of urinary tract infection in febrile infants". *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1994; 13: 294-9.
- (209).Patel V, Luft FC, Yum MN, Patel B, Zeman W, Kleit SA. "Enzymuria in gentamicin-induced kidney damage". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1975; 7: 364-9.
- (210).Wiktorowicz JE, Awasthi YC, Kurosky A, Srivastava SK. "Purification and properties of human kidney-cortex hexosaminidases A and B". *Biochem. J.* 1977; 165: 49-53.
- (211).Bourbouze R, Baumann FC, Bonvalet JP, Farman N. "Distribution of N-acetyl β -D-glucosaminidase isoenzymes along the rabbit nephron". *Kidney Int.* 1984; 25: 636-42.
- (212).Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown MS. "The metabolic basis of inherited disease". McGraw-Hill Book Company. New York. 1983; pp: 946.
- (213).Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. "Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity". *Clin. Chem.* 1981; 27: 1180-5.
- (214).Kind PRN. "N-acetyl β -D-glucosaminidase in urine of patients with renal disease, and after renal transplant and surgery". *Clin. Chim. Acta.* 1982; 119: 89-97.
- (215).Pierce RJ, Spik G, Montrevil J. "Cytosolic location of an endo-N-acetyl β -D-glucosaminidase activity in rat liver and kidney". *Biochem. J.* 1979; 180: 673-6.

- (216).Tucker SM, Pierce RJ, Price RG. "Characterization of human N-acetyl β -glucosaminidase isoenzymes as an indicator of tissue damage in disease". *Clin. Chim. Acta.* 1980; 102: 29-40.
- (217).Gibey R, Dupond JL, Henry JC. "Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes profiles: a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins". *Clin. Chim. Acta.* 1984; 137: 1-11.
- (218).Donta ST, Lembke LA. "Comparative effects of gentamicin and tobramycin on excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 28: 500-3.
- (219).Simeoni U, Schnitzler B, Massfelder T, Hirt H, Koehl C, Hamel G, Helwig JJ, Messer J, Geissert J, Willard D. "Specific development profiles of lysosomal and brush border enzymuria in the human". *Biol. Neonate.* 1994; 65: 1-6.
- (220).Feldmann D, Flandrois C, Jardel A, Phan TM, Aymard P. "Circadian variations and reference intervals for some enzymes in urine of healthy children". *Clin. Chem.* 1989; 35: 864-7.
- (221).Stolarek I, Howey JEA, Fraser CG. "Biological variation of urinary N-acetyl β -D-glucosaminidase: practical and clinical implications". *Clin. Chem.* 1989; 35: 560-3.
- (222).Maruhn D, Fuchs I, Mues G, Bock KD. "Normal limits of urinary excretion of eleven enzymes". *Clin. Chem.* 1976; 22: 1567-74.
- (223).Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, England CA, DeAngelis C. "Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease". *Pediatrics.* 1988; 62: 751-60.

- (224).Jung K, Schulze BD, Sydow K. "Diagnostic significance of different urinary enzymes in patients suffering from chronic renal disease". *Clin. Chim. Acta.* 1987; 168: 287-95.
- (225).Gonick HC, Kramer HJ, Shapiro AE. "Urinary β -glucuronidase activity in renal disease". *Arch. Intern. Med.* 1973; 132: 63.
- (226).Sethi K, Diamond LH. "Aminoglycoside nephrotoxicity and its predictability". *Nephron.* 1981; 27: 265-70.
- (227).Gibey R, Dupond JL, Alber D, Leconte des Floris R, Henry JC. "Predictive value of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG), alanine-aminopeptidase (AAP) and beta-2-microglobulin (β_2M) in evaluating nephrotoxicity of gentamicin". *Clin. Chim. Acta.* 1981; 116: 25-34.
- (228).Adelmann RD, Conzelmann G, Spangler W, Ishizaki G. "Comparative nephrotoxicity of gentamicin and netilmicin: functional and morphological correlations with urinary enzyme activities". En "Diagnostic significance of enzymes and proteins in urine". Dubach VC y Schmidt P, ed. Hans Huber Publisher. Berna. pp: 166-80.
- (229).Au S, Weiner N, Schacht J. "Membrane perturbation by aminoglycosides as a simple screen of their toxicity". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986; 30: 395-7.
- (230).Godson C, Ryan MP, O'Halloran D, Bourke S, Brady HR, Fitzgerald MX. "Investigation of aminoglycoside nephrotoxicity in cystic fibrosis patients". *Scand. J. Gastroenterol.* 1989; 143 (Sup): 70-3.
- (231).Ellis BG, Tucker SM, Thompson AG, Price RG. "Presence of serum and tissue forms of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in urine from patients with renal disease". *Clin. Chim. Acta.* 1975; 64: 195-202.

- (232).Rajchgot P, Prober CG, Soldin S, Perlman S, Good F, Harding E, Klein J, McLeod S. "Aminoglycoside-related nephrotoxicity in the premature newborn". *Clin. Pharmacol. Ther.* 1984; 35: 394-401.
- (233).Powell JH, Reidenberg MM. "Further studies of the response of kidney lysosomes to aminoglycosides and their cations". *Biochem. Pharmacol.* 1983; 32: 3213-20.
- (234).Moser JL, Gibey R, Dupond JL, Henry JC. "Influence des aminoglycosides sur l'activité de la N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) urinaire et des ses isoenzymes". *Pathol. Biol. Paris.* 1988; 36: 230-4.
- (235).Feig PU, Mitchell PP, Abrutyn E, Brock SM, Carney WR, Graeber CW. "Aminoglycoside nephrotoxicity: a double blind prospective randomized study of gentamicin and tobramycin". *J. Antimicrob. Chemother.* 1982; 10: 217-26.
- (236).Feig PU, Mitchell PP, Horak E, Carney WR, Graeber CW, Lyons R. "Effect of gentamicin and tobramycin on serum creatinine and urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and β_2 -microglobulin". *Clin. Res.* 1981; 29: 462.
- (237).Camps J, Sola X, Rimola A, Pares A, Rives A, Salmeron JM, Arroyo V, Rodés J. "Comparative study of aminoglycoside nephrotoxicity in normal rats and rats with experimental cirrhosis". *Hepatology.* 1988; 8: 837-44.
- (238).Sandberg T, Bergmark T, Hultberg B, Jagenburg R, Trollfors B. "Diagnostic potential of urinary enzymes and beta-2-microglobulin in acute urinary tract infection". *Acta Med. Scand.* 1986; 219: 489-95.
- (239).Sandberg T, Cooper E, Lidin-Janson G, Yu H. "Fever and proximal tubular function in acute pyelonephritis". *Nephron.* 1985; 41: 39-44.

- (240).Meissner H. "Effect of gentamicin on the subcellular distribution of renal β -N-acetyl-glucosaminidase activity". *Biochem. Pharmacol.* 1981; 30: 2949.
- (241).Jung K, Diego J, Strobelt V, Scholz D, Schreiber G. "Diagnostic significance of some urinary enzymes for detecting acute rejection crises in renal-transplant recipients: alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, glutamyl transferase, N-acetyl- β -D-glucosaminidase and lysosome". *Clin. Chem.* 1986; 32: 1807-11.
- (242).Kotanko P, Keiler R, Knabl L, Aulitaky W, Margreiter R, Estraunthaler G, Pfaller W. "Urinary enzyme analysis in renal allograft-transplantation". *Clin. Chim. Acta*; 160: 133-44.
- (243).Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. "APACHE II: a severity of disease classification system". *Crit. Care Med.* 1985; 13: 818-29.
- (244).Carrasco de la Peña JL. "El método estadístico en la investigación médica". Editorial Ciencia 3. Madrid. 1987.
- (245).Bailar JC, Mosteller F. "Medical uses of statistics". N.E.J.M. Books. Massachussetts. 1986.
- (246).Doménech Massons JM. "Métodos estadísticos en Ciencias de la Salud". Editorial Universidad Autónoma de Barcelona.. 1993.
- (247).Doménech Massons JM. "Diseño y estadística para la investigación en Ciencias de Salud". Editorial Autónoma de Barcelona. 1995.
- (248).Hulley SB, Cummings SR. "Diseño de la investigación clínica". Ediciones Doyma. 1993.

- (249).Colton C. "Estadística en medicina". Editorial Masson-Salvat. 1992.
- (250).Eisenberg JM, Koffer H, Glick HA, Connell ML, Loss LE, Talbott GH. "What is the cost of nephrotoxicity associated with aminoglycosides?". *Ann. Intern. Med.* 1987; 107: 900-9.
- (251).Gilbert DW. "Once daily aminoglycoside therapy". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991; 35: 399-405.
- (252).Bates RD, Nahata MC. "Once-daily administration of aminoglycosides". *Ann. Pharmacother.* 1994; 28: 757-66.
- (253).Kumana CR, Yuen KY. "Parenteral aminoglycoside therapy. Selection, administration and monitoring". *Drugs.* 1994; 47: 902-13.
- (254).Levison ME. "New dosing regimens for aminoglycoside antibiotics". *Ann. Intern. Med.* 1992; 117: 693-4.
- (255).Price KE. "Aminoglycoside research 1975-1985: prospects for development of improved agents". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986; 29: 543-8.
- (256).Staneva M, Markova B, Atanasova I, Terziivanov. "Pharmacokinetic and pharmacodynamic approach for comparing two therapeutic regimens using amikacin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 981-5.
- (257).Frame PT, Phair JP, Watanakunakorn C, Bannister TW. "Pharmacologic factors associated with gentamicin nephrotoxicity in rabbits". *J. Infect. Dis.* 1977; 135: 952-6.
- (258).Galloe AM, Madsen LB, Graudal N, Kampmann JP. "Aminoglycoside: single or multiple daily dosing?". *Lancet.* 1993; 341: 1152.

- (259).Vree TB, Zweens K, Huige PJC, Guelen PJM, Jongman-Nix B. "Interaction between the renal excretion rates of β_2 -microglobulin and tobramycin in man". *Clin. Chim. Acta.* 1984; 138: 49-57.
- (260).Price RG, Dance N, Richards B, Cattell WR. "The excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase and β -galactosidase following surgery to the kidney". *Clin. Chim. Acta.* 1970; 27: 65.
- (261).Mattie H, Craig WA, Pechère JC. "Determinants of efficacy and toxicity of aminoglycosides". *J. Antimicrob. Chemother.* 1989; 24: 281-93.
- (262).Hickling AZ, Begg EJ, Perry RE. "Serum aminoglycoside clearance is predicted as poorly by renal aminoglycoside clearance as by creatinine clearance in critically ill patients". *Crit. Care Med.* 1991; 19: 1041-7.
- (263).Tulkens PM. "Efficacy and safety of aminoglycosides once-a-day: experimental and empirical data". *Scand. J. Infect. Dis.* 1991; 74 (Sup): 249-57.
- (264).Funakawa S, Itoh T, Nakamura M, Tochino Y. "Age related changes of N-acetyl- β -D-glucosaminidase and L-alanine aminopeptidase in mouse kidney, urine and plasma". *Life Sci.* 1987; 40: 1193-9.
- (265).Rybak MJ, Frankowski JJ, Edwards DJ, Albrecht LM. "Alanine aminopeptidase and β_2 -microglobulin excretion in patients receiving vancomycin and gentamicin". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987; 31: 1461-4.
- (266).Gary NE, Buzzeo L, Salaki J, Eisinger RD. "Gentamicin-associated acute renal failure". *Arch. Intern. Med.* 1976; 136: 1101-4.