

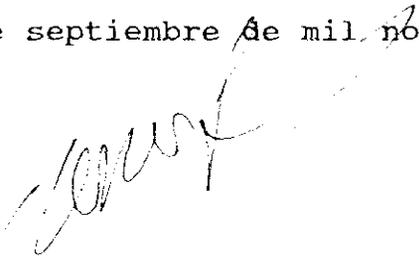
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

**NEFROTOXICIDAD GENTAMICINA DEPENDIENTE.
POSIBLE PROTECCION Y EVALUACION FARMACOCINETICA.**

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por:
M^a Jesús Pérez de la Cruz.

RAFAEL CADORNIGA CARRO, CATEDRATICO DE FARMACIA Y TECNOLOGIA FARMACEUTICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

CERTIFICO: Que la presente memoria experimental y bibliográfica para optar al grado de Doctor en Farmacia elaborada por Dñ^a M^a Jesús Pérez de la Cruz, ha sido realizada bajo la dirección conjunta de la Dra. Pilar Pastoriza Abal y del Catedrático que suscribe, en el laboratorio de la cátedra de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Esta memoria se encuentra concluida por lo que autorizo su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente. Y que para que así conste firmo la presente certificación en Madrid, a veinticuatro de septiembre de mil novecientos noventa y uno.



Deseo manifestar mi agradecimiento al Prof. D. Rafael Cadórniga, director de este trabajo, quien ya desde 1985 me facilitó todo su apoyo para realizar la tesina y posteriormente me alentó y orientó en la elaboración y finalización de la presente memoria, contribuyendo a mi formación tanto científica como humana.

A la Dra. Pilar Pastoriza co-directora de esta memoria, quiero agradecerle en primer lugar la ayuda e interés prestados en la realización de las diferentes partes de este estudio. Sus conocimientos y críticas constructivas, así como sus consejos, me han resultado de un valor inestimable. En segundo lugar también deseo expresarle mi gratitud por haberme brindado durante todos estos años su amistad incondicional y afecto.

A la Dra. Irene Molina quien de forma desinteresada colaboró y apoyó la realización de este trabajo.

Gracias también a la Dra. Gloria Frutos por haber puesto a disposición de esta memoria su experiencia y conocimientos matemáticos.

Mi reconocimiento a la Dra. Prats, del Servicio de Diálisis y Regulación Humoral del Hospital Clínico de San Carlos, donde se llevaron a cabo parte de los trabajos experimentales de esta memoria.

De igual forma agradezco a la Dra. Carmen Ochoa, de los laboratorios Morrith su colaboración al facilitar la estabulación de los animales de experimentación utilizados en esta memoria, así como sus conocimientos bioquímicos.

Al Dr. Navarro, del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Ramón y Cajal le agradezco su participación en la interpretación de los aspectos histológicos realizados en este estudio.

Por último, a todos los compañeros del Departamento y de forma muy especial a la sección de Biofarmacia por su ayuda constante, gracias.

A Jorge y Javier

A mis padres

INTRODUCCION	1
. Aspectos generales de la toxicidad producida por antibióticos aminoglucósidos	7
. Nefrotoxicidad inducida por gentamicina	23
. Prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina	51
OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO	79
MATERIAL Y METODOLOGIA	87
1.- Técnica analítica	89
1.1.- Descripción del material y método de trabajo	89

INDICE

2.- Material utilizado	97
3.- Reactivos empleados	98
4.- Diseño experimental	99
4.1.- Protocolo experimental en pacientes insuficientes renales sometidos a hemodiálisis	99
4.2.- Protocolo experimental en animales de experimentación	115
5.- Análisis farmacocinético	128
5.1.- Modelo farmacocinético y estimación de parámetros en pacientes diabéticos y no diabéticos durante la sesión de hemodiálisis	144

5.2.- Modelo farmacocinético y estimación de parámetros de gentamicina en dosis múltiple. Estudio en conejos	154
6.- Análisis estadístico	157
RESULTADOS Y DISCUSION	161
I.- Técnica analítica	163
II.- La diabetes Mellitus en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Estudio en pacientes durante la sesión de hemodiálisis	169
II.a.- Análisis farmacocinético	174
II.b.- Comentarios	195

INDICE

ANEXO I	197
ANEXO Ia	235
III.- El calcio en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Estudio en animales de experimentación	245
III.a.- Tratamiento de datos	251
III.b.- análisis farmacocinético	261
III.c.- Determinación de gentamicina en tejido renal	270
III.d.- Estudio histopatológico	274
III.e.- Comentarios	279
ANEXO II	281

ANEXO IIa	355
CONCLUSIONES	363
BIBLIOGRAFIA	369

I N T R O D U C C I O N

INTRODUCCION

Una vez demostrado, hace más de cincuenta años, que la penicilina era capaz de inhibir el crecimiento bacteriano, comienza una búsqueda sistemática de compuestos de origen natural o de síntesis capaces de producir estos mismos efectos. El hecho de que solamente se puedan utilizar aquellas sustancias que interfieren directamente la proliferación de organismos patógenos, sin que sean tóxicas para las células del huésped, conduce a que, únicamente, pequeños porcentajes de estos compuestos estudiados, hayan podido ser utilizados en clínica de forma habitual.

Waksman y cols. descubren en 1943, después de examinar de forma sistemática gran cantidad de actinomicetos del suelo, que el "Streptomices griseus" elabora una sustancia con potencia antimicrobiana; la estreptomina, que en pocos años se estudia en profundidad al tiempo que comienza su aplicación clínica con éxito. De este modo, se inicia la investigación de un complejo grupo de antibióticos que tienen gran difusión en la actualidad.

El amplio espectro bacteriano que presentaba la estreptomina con respecto a la penicilina, único antibiótico entonces en uso, supuso un notable avance en la lucha contra las enfermedades infecciosas. Se amplía el margen de la investigación en la antibioterapia y fruto de estos trabajos es el descubrimiento de nuevos antibióticos con parecida configuración estructural. A la estreptomina, sigue la

INTRODUCCION

neomicina (1949), kanamicina (1957), gentamicina (1963)...

El número de compuestos análogos, desde el punto de vista de su configuración estructural, ha ido aumentando en el transcurso de los años y en el momento actual se acentuó el interés por este grupo debido a tres razones fundamentales:

1.- Varios miembros de esta familia (la gentamicina, por citar un ejemplo) son activos frente a pseudomonas, germen habitualmente resistente a otros antibióticos, y responsable de múltiples infecciones de interés clínico.

2.- El descubrimiento de que la resistencia a antibióticos de este grupo, por gérmenes con significación clínica, se debe a la capacidad de los microorganismos resistentes para degradar enzimáticamente el antibiótico.

3.- La posibilidad de realizar modificaciones químicas en la molécula del antibiótico, susceptibles de evitar su degradación microbiana por gérmenes resistentes al agente original.

El desarrollo cronológico de los antibióticos aminoglucósidos y la posibilidad de modificar su espectro de

actividad mediante manipulación química, ha dado lugar a que se realice, por algunos autores, una clasificación generacional que comienza con los primeros aminoglucósidos descubiertos, para concluir con los de semi-síntesis o los de síntesis total.

Desde el punto de vista cronológico, podemos considerar hasta el momento actual, la existencia de tres generaciones de antibióticos aminoglucósidos.

La primera generación, está constituida por la estreptomycin, la neomicina y la kanamicina; si bien su utilización ha disminuido en la actualidad, por poseer un espectro de actividad limitado y porque numerosas cepas patógenas han desarrollado resistencia, fueron los agentes utilizados frente a infecciones producidas por bacilos Gram-negativos hasta los años setenta.

La segunda generación de estos antibióticos surge con la gentamicina y la tobramicina. Estos poseen un espectro de actividad mayor y son eficaces frente a la mayoría de las cepas resistentes a la kanamicina. El aumento en su utilización conduce a la aparición de numerosos tipos de cepas resistentes, lo que hace necesaria una tercera generación de aminoglucósidos que la integran los compuestos de semi-síntesis obtenidos por modificación de las moléculas de

INTRODUCCION

aminoglucósidos ya existentes, así se describen la dibecacina, la amicacina, la netilmicina... que constituyen dentro de esta familia de antibióticos los llamados antibióticos modernos, con una potencia antimicrobiana aceptable, y una similar toxicidad; en muchos de ellos la experiencia clínica es todavía reducida.

No cabe duda, que al lado de las espectaculares respuestas de la estreptomina en los procesos tuberculosos, o la gran actividad de los nuevos aminoglucósidos frente a gran número de gérmenes causantes de procesos infecciosos, están una serie de reacciones adversas, tan graves, que si bien no los relega a un segundo término, si debería delimitar extraordinariamente su utilización clínica.

Sin embargo, existen una serie de hechos que aunque todavía hoy no son mas que observaciones clínicas, pueden constituir una esperanza en la posible utilización de estos compuestos sin los riesgos que implica su uso en el momento actual.

¿ Por qué los pacientes diabéticos estan protegidos frente a la nefrotoxicidad de estos antibióticos ?. ¿ Por qué niveles moderados de calcio o compuestos que inhiben la anhidrasa carbónica, son igualmente protectores ?.

ASPECTOS GENERALES DE LA TOXICIDAD PRODUCIDA POR
ANTIBIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS.

Como ya se ha dicho Waksman y colaboradores (1) ,en el año 1943 aislaron la estreptomycin a partir del St. Griseus, lo que supone un gran avance en la lucha contra las infecciones bacterianas severas producidas por microorganismos Gram-negativos.

Gracias a este paso fundamental se abre el camino hacia la búsqueda y descubrimiento de nuevos aminoglucósidos tanto naturales como semisintéticos, que cubren un espectro antibacteriano ante el, que todavía hoy , existen pocas alternativas.

Sin embargo la experiencia clínica durante estos años, nos demuestra las limitaciones que conlleva su empleo, entre las que cabe destacar su oto, nefro y neurotoxicidad, que pasaremos a comentar a continuación.

La utilización prolongada de antibióticos

INTRODUCCION

aminoglucósidos provoca el aumento de las concentraciones plasmáticas y favorece la acumulación progresiva de dichos antibióticos en la perilinfa del oído interno, ya que el tiempo medio del aminoglucósido en el fluido ótico es de 5 ó 6 veces mayor que en el plasma por lo que el riesgo de una posible disfunción auditiva, es elevada.(2)

La figura I , muestra la evolución de los niveles en suero y perilinfa de cobaya, después de la administración de una dosis subcutanea única de 50 mg de gentamicina , tobramicina y 250 mg de amicacina por Kg de peso.(3)

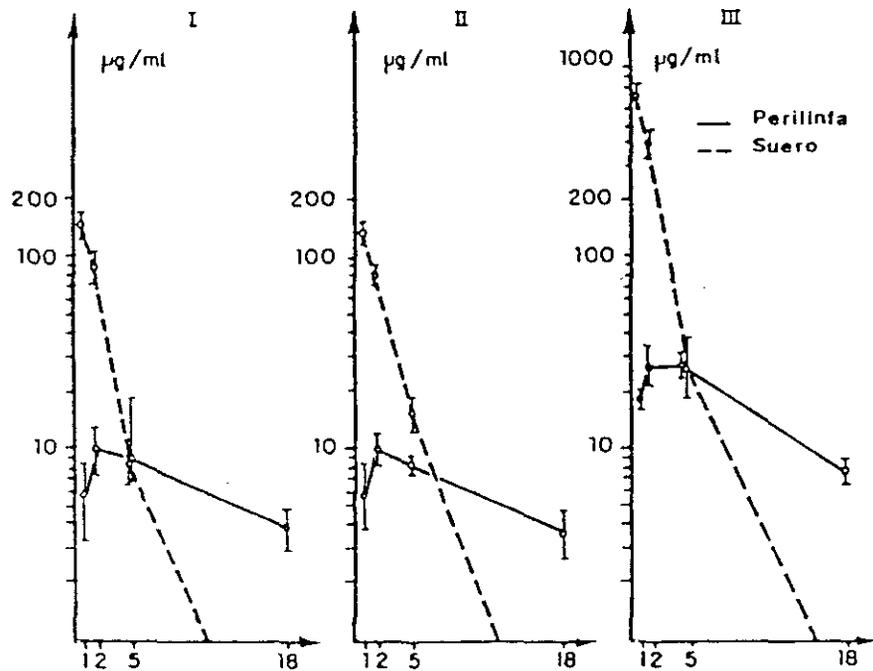


Fig. I. Niveles de aminoglucósido en suero y perilinfa de cobaya. (3)

La ototoxicidad es el resultado de la progresiva destrucción de las células ciliadas de la cresta ampularis (órgano vestibular) y de las células ciliadas del órgano de Corti. Dichas células sensoriales parecen ser el lugar principal de toxicidad de los aminoglucósidos, provocando cambios característicos que en casos de toxicidad severa pueden provocar una total degeneración celular. (4).

INTRODUCCION

Para Schacht y colaboradores, (5), dicha toxicidad puede ser debida a la unión de los grupos amino del antibiótico a los grupos fosfato de los polifosfoinositoles, situados en la membrana celular, provocando la pérdida de la permeabilidad y en consecuencia su funcionalidad.

Wagner y Norris, (6-7), sugieren la posibilidad de que los antibióticos aminoglucósidos interfieren en el sistema de transporte activo, esencial para mantener el balance iónico de la endolinfa. Esto nos conduce a una alteración en la concentración normal de iones en los fluidos del laberinto, disminuyendo así la actividad eléctrica en la conducción nerviosa. Dichos cambios osmóticos pueden dañar las células ciliadas de forma irreversible.

El grado de disfunción coclear o vestibular está relacionado con el número de células alteradas o destruidas y es directamente proporcional al tiempo de exposición al fármaco.

Con un aumento de las dosis del aminoglucósido y una prolongada exposición, el daño progresa, desde la base de la cóclea donde se procesan los sonidos de alta frecuencia, hasta el Apex, necesario para la percepción de los sonidos de baja frecuencia.

INTRODUCCION

Mientras la lesión no es muy severa esta puede ser reversible ya que la degeneración celular no ocurre hasta después de que las células sensoriales han sido destruidas.(8).

Aunque todos los aminoglucósidos son susceptibles de afectar tanto la función vestibular como la coclear, existen diferencias de intensidad en el grado de la lesión entre ellos.

Kahlmeter y colaboradores,(9), en 1984 realizan una revisión bibliográfica de los años 1975-1982, en la que tras recoger más de 20.000 ensayos clínicos realizados con aminoglucósidos, elaboran las siguientes tablas comparativas:

T. VESTIBULAR	N. ENSAYOS	N. PACIENTES	TOXICIDAD
Gentamicina	8	559	2.7
Tobramicina	3	323	2.2
Netilmicina	5	336	0.9
Amicacina	6	217	2.8

Tabla I. Estudio de toxicidad vestibular producida por antibióticos aminoglucósidos.

INTRODUCCION

TOXICIDAD COCLEAR	ENSAYO COMPARAT.	Nº	TOXICIDAD %	MEDIA
Gentamicina	Tobramicina	6	9.2	8.3
	Netilmicina	7	2.1	
	Amicacina	10	11.4	
Tobramicina	Gentamicina	6	5.0	5.2
	Netilmicina	1	11.9	
	Amicacina	2	1.9	
Netilmicina	Gentamicina	7	1.5	3.0
	Tobramicina	1	2.7	
	Amicacina	5	6.3	
Amicacina	Gentamicina	10	12.7	12.2
	Tobramicina	2	6.9	
	Netilmicina	5	13.2	

Tabla II. Estudio comparativo de toxicidad coclear producida por antibióticos aminoglucósidos.

Podemos destacar a la netilmicina como el aminoglucósido que presenta menor toxicidad tanto coclear como vestibular y por el contrario se situa a la amicacina como la más ototóxica.

Los síntomas iniciales al producirse el daño coclear, inducido por los aminoglucósidos incluyen " tinnitus aurium ", y/o sensación de presión en el oído. Sin embargo la pérdida total de audición puede presentarse sin previo aviso.

La disfunción a nivel vestibular, se manifiesta con vértigo, náuseas, vómitos o síndrome agudo de Menier. (9).

Uno de los problemas más graves que presenta la utilización clínica de estos compuestos es la toxicidad renal. Esta se caracteriza por la existencia de una serie de trastornos que afectan a la filtración glomerular, reabsorción por el túbulo proximal y concentración urinaria.

Abundantes estudios en animales de experimentación confirman que todos los aminoglucósidos, con la posible excepción de la estreptomycin, se acumulan en cantidades elevadas en el riñón y en menor proporción en otros tejidos.

INTRODUCCION

La primera evidencia de esta acumulación de los aminoglucósidos fué publicada por Kahlmeter (10), en 1975, que confirmaba que la gentamicina persistía durante varios días en la orina de un paciente con función renal normal, después de la interrupción del tratamiento. Esta aparente contradicción, con la corta semivida en fase beta, confirma la hipótesis de la acumulación de este medicamento en tejidos, fundamentalmente en riñón. En un estudio realizado por Rudhart y colaboradores (11) en ratas, a las que se les administró una dosis única por vía peritoneal de 4 mg/Kg de gentamicina y sisomicina y de 25 mg/Kg de amicacina (dosis escogidas para obtener en sangre niveles análogos a los que determinan en el hombre las dosis usadas en clínica), demuestran que la gentamicina se acumula en la corteza renal y 6 horas después de la administración los niveles son de 123 ± 20 mcg/g en tejido, es decir 20 veces superiores al pico sérico.

Las concentraciones disminuyen lentamente y la semivida puede ser del orden de 166 horas entre el 5º y 28º día. Cuatro semanas después de una sola administración las concentraciones en la corteza eran del orden de 7 mcg/g por gramo de tejido. Figura.II.

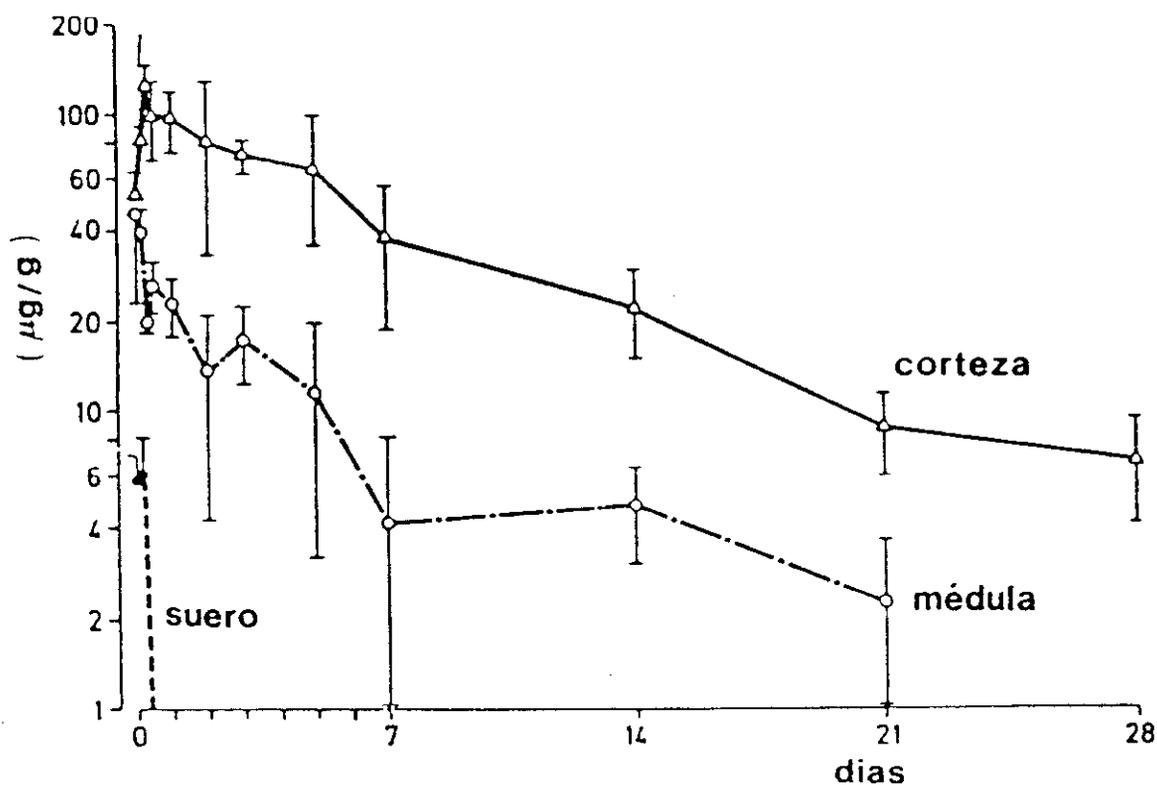


Fig. II. Niveles en suero, corteza y médula renal tras la administración de una dosis de gentamicina de 4 mg/Kg de peso a ratas.

La situación se hace más compleja, cuando se trata de una administración en dosis múltiple.

En el estudio citado anteriormente, Rudhart y cols (11) determinan la concentración de gentamicina, en corteza y médula renal durante y después del tratamiento con gentamicina

INTRODUCCION

a razón de una dosis intraperitoneal en ratas de 4 mg/kg cada 24 horas durante 21 días consecutivos.

Se observa que seis horas antes de la séptima inyección las concentraciones de gentamicina se elevan a 356 mcg/g de tejido, Figura III, sin embargo las concentraciones de gentamicina permanecen prácticamente constantes a lo largo de todo el tratamiento alcanzando valores de 312 mcg/g las dos semanas de tratamiento y 312 mcg/g el vigésimo primer y último día del ensayo.

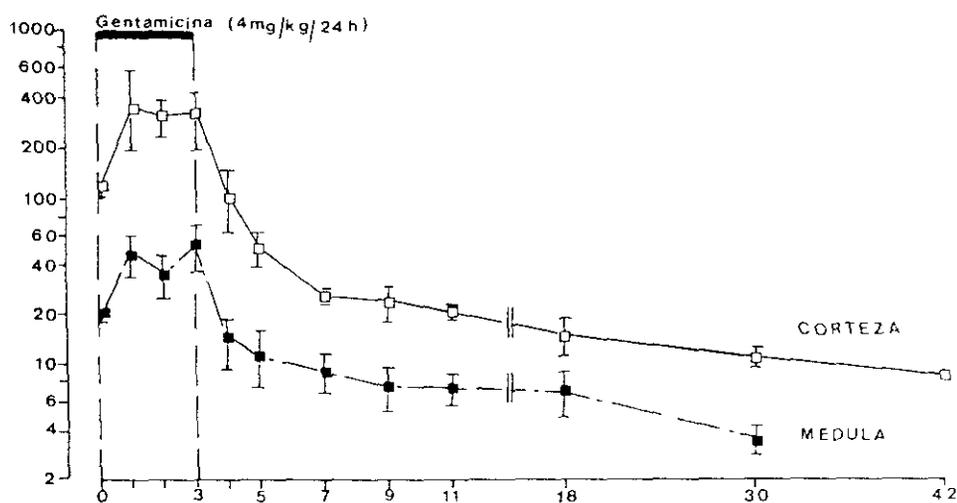


Fig. III. Niveles de gentamicina en corteza y médula renal tras la administración de una dosis de 4 mg/Kg/24 h de Gentamicina durante 21 días consecutivos.

La figura III, muestra como las concentraciones en la corteza renal disminuyen con el tiempo. A las dos semanas de interrumpir el tratamiento los niveles son del orden de 50 mcg/g de tejido y ocho meses después, tras determinar los niveles del aminoglucósido en la corteza renal oscilaron entre 9 y 7 mcg/g de tejido. El valor de semivida evaluada a partir de estos datos, es de 5 días, durante la primera semana, para prolongarse alcanzando valores de 50 días entre la cuarta y la octava semana. Posteriormente el descenso de concentraciones se hace mucho más lento.

La acumulación en la médula renal es similar pero las concentraciones son más bajas que en la corteza.

Como dijimos anteriormente, la nefrotoxicidad de los antibióticos aminoglucósidos se produce por un daño selectivo en los túbulos proximales. Dichos antibióticos, son reabsorbidos desde el filtrado glomerular por un proceso de pinocitosis y almacenados en los lisosomas de las células del túbulo proximal. (12-13).

En el borde luminal se unen a los grupos fosfato del fosfatidilinositol, inhibiendo las fosfolipasas lisosómicas y dando lugar a una fosfolipidosis.

INTRODUCCION

Es un hecho conocido que las membranas lisosómicas favorecen la estabilidad e impermeabilidad a las partículas osmóticamente activas. Por ello la progresiva destrucción de los lisosomas por la acumulación del aminoglucósido, provoca la permeabilidad de las membranas con la consiguiente liberación de enzimas al citoplasma y la acumulación de formaciones membranosas llamadas cuerpos mielóides, que causan la lesión tubular.

Aunque todos los aminoglucósidos son susceptibles de producir daño renal, existen diferencias entre ellos en cuanto a la intensidad de la lesión que ocasionan.(14).

Kahlmeter y colaboradores, (9) realizan un estudio comparativo de nefrotoxicidad entre diversos aminoglucósidos.

El resultado de este estudio pone de manifiesto que la gentamicina se clasifica como la más nefrotóxica seguida de la tobramicina, netilmicina y por último la amicacina. Tabla III.

TOXICIDAD COCLEAR	ENSAYO COMPARAT.	TOXICIDAD %	MEDIA
	Tobramicina	23.5	
Gentamicina	Netilmicina	8.3	17.1
	Amicacina	15.4	
	Gentamicina	13.2	
Tobramicina	Netilmicina	3.7	12.7
	Amicacina	16.4	
	Gentamicina	6.2	
Netilmicina	Tobramicina	6.1	6.6
	Amicacina	8.5	
	Gentamicina	8.6	
Amicacina	Tobramicina	17.1	9.3
	Netilmicina	6.3	

Tabla. III. Estudio comparativo de nefrotoxicidad producida por antibióticos aminoglucósidos.

INTRODUCCION

Otro de los posibles efectos tóxicos producidos por los antibióticos aminoglucósidos es la neurotoxicidad. En el hombre el bloqueo neuromuscular se manifiesta generalmente cuando las dosis administradas del aminoglucósido son muy elevadas. (15)

Estudios realizados en animales de experimentación indican que los aminoglucósidos producen un bloqueo neuromuscular no despolarizante, inhibiendo la liberación de la acetilcolina de las terminaciones nerviosas motoras y reduciendo la sensibilidad postsináptica en la transmisión nerviosa. (16).

Estos antibióticos bloquean los lugares de la membrana presináptica, normalmente ocupados por el Ca^{++} , evitando la unión de éste al músculo liso.

La capacidad del calcio para restaurar la transmisión neuromuscular, así como la acción protectora del calcio contra el bloqueo del aminoglucósido, sugieren que dichos antibióticos están relacionados con la liberación de acetilcolina en los impulsos nerviosos. El calcio supera por tanto el efecto del aminoglucósido en la función neuromuscular y por ello la administración de sales de Ca^{++} , es el tratamiento indicado en estos casos.

INTRODUCCION

En cuanto al grado de neurotoxicidad que producen los aminoglucósidos, Paradelis y colaboradores, (17), en un estudio realizado en ratas señalan que si bien todos son susceptibles de producir neurotoxicidad, existen diferencias significativas entre ellos.

Así clasifican por orden gentamicina > estreptomycin > amikacina > sisomicina > kanamicina = tobramicina.

Como resumen de lo expuesto hasta ahora, podemos sugerir que el mecanismo íntimo que explica la toxicidad renal y ótica de los aminoglucósidos parece ser el mismo.

Ambas estructuras, el parénquima renal y el oído interno, aparentemente diferentes presentan cierta similitud tanto a nivel fisiológico como patológico. (18) :

.-Existencia de una función común: transporte de agua y electrolitos a través de la membrana.

.-Similitud antigénica entre las células del órgano de Corti y las del glomérulo.

.-Existencia de una serie de enfermedades que afectan a ambos órganos, lo mismo que una serie de sustancias

INTRODUCCION

químicas, además de los aminoglucósidos que producen toxicidad ótica y renal.

Una vez descrito en los párrafos anteriores el marco general en el que se puede encuadrar la problemática específica de estos fármacos, pasaremos a describir en profundidad los mecanismos de nefrotoxicidad inducida por la gentamicina, como uno de los objetivos principales de esta Memoria.

NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR GENTAMICINA

Como ya mencionamos anteriormente el riñón es la ruta principal de eliminación de los antibióticos aminoglucósidos, siendo excretados fundamentalmente por procesos de filtración glomerular (19). La gentamicina se excreta casi de forma inalterada en la orina durante las primeras seis horas después de la administración de una dosis por vía intramuscular, la cantidad eliminada en las primeras 24 horas supone el 80-90% de la dosis.(20).

El clearance del aminoglucósido es prácticamente igual que el de la inulina, hecho que puede explicarse ya que ambos poseen un bajo peso molecular y una escasa unión a las proteínas plasmáticas.

Son numerosos los autores, (21-24) que han demostrado que una vez en el lumen tubular la gentamicina es recaptada por las células del túbulo proximal. Como consecuencia de esta recaptación se produce una unión selectiva en la corteza renal alcanzando concentraciones más altas en dicho tejido que las encontradas en el plasma. Sin embargo la acumulación

INTRODUCCION

en la médula renal es considerablemente menor.

La recaptación celular y la acumulación de la gentamicina en el túbulo proximal ha quedado demostrada gracias a las técnicas autoradiográficas realizadas por diversos autores.(25-26).

Feldman y colaboradores,(27), realizaron una experiencia en ratas a las cuales se les administró 100 mg/kg/día de gentamicina por vía subcutanea durante uno y dos días de tratamiento, estudiándose los fosfolípidos totales en la corteza renal y en hígado. Después de dos días de tratamiento con gentamicina aumentó significativamente la fosfatidilcolina, la fosfatidilserina, el fosfatidilinositol y la fosfatidiletanolamina. Dichos datos quedan recogidos en la figura IV , expresado como porcentaje.

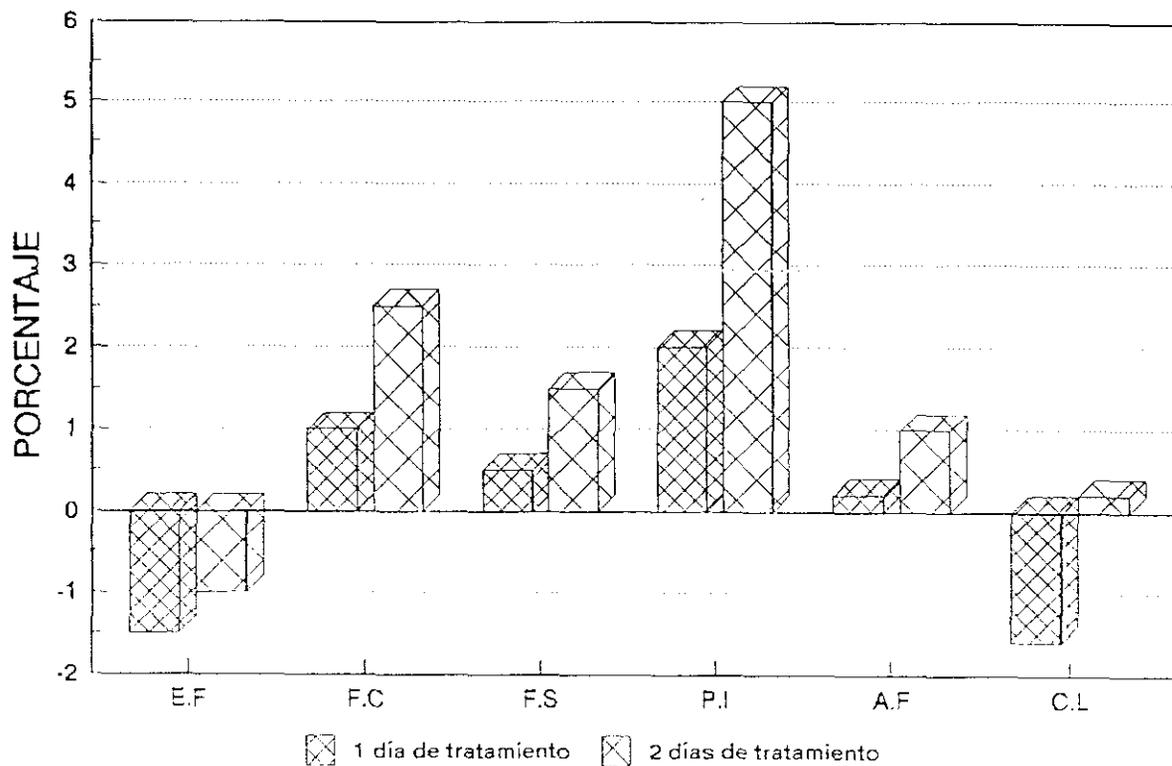


Fig. IV. Efecto de la gentamicina sobre los fosfolípidos de la corteza renal en rata.

Puede comprobarse que el fosfatidilinositol es el que muestra un aumento más notorio. Después de un día de tratamiento con gentamicina el fosfatidilinositol aumenta un 18 ± 2 % y después de dos días de tratamiento el incremento es

INTRODUCCION

del 45 ± 3 %. En contraste con la fosfatidilcolina ya que tras dos días de tratamiento el aumento fue tan solo del 22%.

Con el fin de determinar si los cambios producidos en los fosfolípidos son específicos de la corteza renal, se estudiaron las alteraciones producidas en dichos fosfolípidos en el hígado de la rata, tras dos días de tratamiento con la misma dosis de gentamicina. La tabla IV muestra que no existen diferencias significativas en el contenido de los fosfolípidos totales.

FOSFOLIPIDOS	CONTROL (mcgmol/g)	GENTAMICINA
Total	134.3±6.1	128.3±3.3
Esfingomielinea	5.2±0.3	5.3±0.3
Fosfatidilcolina	70.2±2.5	67.6±2.3
Fosfatidilserina	5.3±0.3	5.0±0.2
Fosfatidilinositol	11.2±0.5	10.8±0.3
Ac.Fosfatídico	35.0±1.9	33.0±1.1
Cardiolipina	3.2±0.3	3.1±0.2

Tabla .IV. Efecto de la gentamicina sobre los fosfolípidos del hígado de rata.(28)

Conforme a los resultados obtenidos se demuestra que la gentamicina induce una fosfolipidosis en la corteza renal con un aumento manifiesto del contenido de fosfatidilinositol. Por otra parte este comportamiento no se produjo en la composición fosfolipídica del hígado.(28).

El mecanismo por el cual se produce esta fosfolipidosis queda recogido en la figura V.

INTRODUCCION

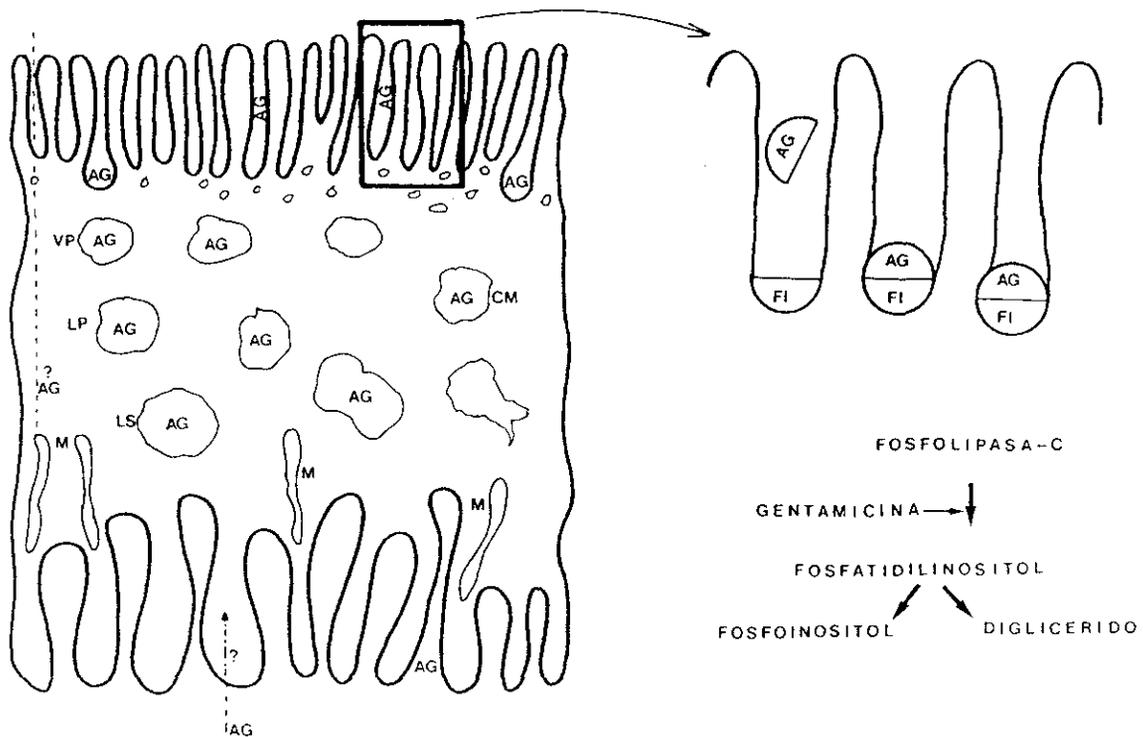


Fig. V . Modelo propuesto para la explicación de la interacción entre los aminoglucósidos y el fosfatidilinositol.

El modelo morfológico establecido por Feldman y colaboradores (27), fue ampliado en 1984 por el Dr Vaamonde,(20), sugiriendo que la gentamicina como fármaco catiónico se une a los fosfoinositoles de carácter aniónico

situados en la superficie de la membrana de las células del túbulo proximal.

Estos receptores aniónicos parecen poseer uno o más componentes fosfolipídicos, predominando el fosfatidilinositol.(27,29-31).

La unión de la gentamicina al receptor va seguida de un proceso de pinocitosis por el cual el complejo fármaco-receptor penetra en los lisosomas primarios y 30-60 minutos después es transferido a los lisosomas secundarios también denominados fagosomas (26,29). Una vez allí el aminoglucósido afecta a la degradación de fosfolípidos inhibiendo las enzimas lisosómicas, fundamentalmente las fosfolipasas A y C, las cuales son responsables del catabolismo de los fosfolípidos. Dicha inhibición trae como consecuencia la acumulación de fosfolípidos y la formación de los llamados cuerpos mielóides.(32).

Además, el aminoglucósido contribuye a la rotura de las membranas lisosómicas dando como resultado la cesión del contenido de dichos lisosomas al citosol, o fuera de él por un proceso de exocitosis.(20).

Gracias a las nuevas técnicas de microscopía electrónica

INTRODUCCION

se ha podido observar que una de las primeras manifestaciones morfológicas de toxicidad va a ser por tanto el aumento en el número y en el tamaño de los lisosomas secundarios seguido de la disminución del número y altura de las microvellosidades de la membrana, la vacuolización citoplasmática y la dilatación del retículo endoplásmico.(33).

En la figura VI se observa por microscopía electrónica un corte de túbulo proximal de un paciente con insuficiencia renal aguda inducida por gentamicina. La destrucción y desaparición de las membranas y la aparición de los cuerpos mieloides son altamente manifiestas.(34).

En la figura VII puede observarse la deformación sufrida por un lisosoma conteniendo varios cuerpos mieloides, dos días después de la perfusión de una dosis de 40 mg/kg de gentamicina en rata.



Fig. VI. Corte de túbulo proximal en paciente con insuficiencia renal. Microscopía electrónica.



Fig. VII. Formación de cuerpos meloides en los lisosomas tras la administración de 40 mg/Kg de gentamicina.

INTRODUCCION

Todo ello va a dar como consecuencia la necrosis y la descamación progresiva de las células produciendo una obstrucción tubular.

El proceso de regeneración celular puede aparecer durante el estado de necrosis, continuando incluso durante la administración del aminoglucósido, siempre y cuando los niveles del fármaco acumulado no lleguen a ser tóxicos.(35)

Sin embargo la aparición de cuerpos mieloides no es específica de los aminoglucósidos, ya que otros agentes nefrotóxicos pueden conducir a la formación de dichas estructuras. Por tanto todo dependerá del tiempo y la cantidad de fármaco a la que la persona o el animal ha estado expuesto.(36).

Silverblatt en 1982, (37), cita como otro posible mecanismo de daño a la célula renal, la supuesta inhibición enzimática que producen estos aminoglucósidos. Los estudios de Leitman (38), realizados en células del túbulo proximal de ratas tratadas con gentamicina muestran que esta inhibe la actividad de la Na-K ATPasa, la cual es responsable del mantenimiento del volumen celular y reguladora enzimática de los gradientes catiónicos esenciales para la supervivencia de la célula.(39).

Los efectos del aminoglucósido sobre los fosfolípidos de la membrana pueden también afectar la actividad de la adenilciclase, enzima que está adherida a la superficie interna de la membrana y responsable de la catalización en la liberación del pirofosfato del ATP para la producción de AMPcíclico.(40).

Existe pues evidencia de que la gentamicina además de unirse a los fosfolípidos situados en la membrana y provocar una fosfolipidosis también es responsable de alteraciones específicas en la permeabilidad de las membranas y en el transporte.

El resultado de estas alteraciones en el entorno intracelular ocasiona cambios en los procesos intracelulares y en las funciones de los orgánulos.(30).

Por otra parte existen indicios apuntados por diversos autores de que la PTH ejerce una función potenciadora o frenadora de la lesión tubular que producen estos antibióticos.

Según Sutherland y colaboradores (41), la mayoría de los efectos de la PTH están mediados por el AMPcíclico. Los niveles del segundo mensajero aumentan en respuesta al estímulo de la

INTRODUCCION

PTH sobre la enzima adenilciclase de la membrana. Está demostrada la existencia de dicha enzima en la corteza renal y dentro de la nefrona en el túbulo contorneado proximal, pars recta, túbulo contorneado distal y primeras ramas del túbulo colector.

No se conoce en profundidad la secuencia de acontecimientos que se producen desde que la PTH estimula el AMPc en el riñón hasta que se lleva a cabo el transporte iónico. La adenilciclase PTH-sensible está localizada preferentemente en la región contraluminal de la membrana en las células de la corteza renal. En el borde de cepillo de estas células están localizados :

- Un sistema autofosforilante consistente en una proteínquinasa AMPc dependiente.
- Una fosfoproteínfosfatasa.
- Y el sustrato de estas enzimas.(42).

En la figura VIII Goltzman (43) propone un esquema hipotético de la acción de la PTH sobre la célula renal.

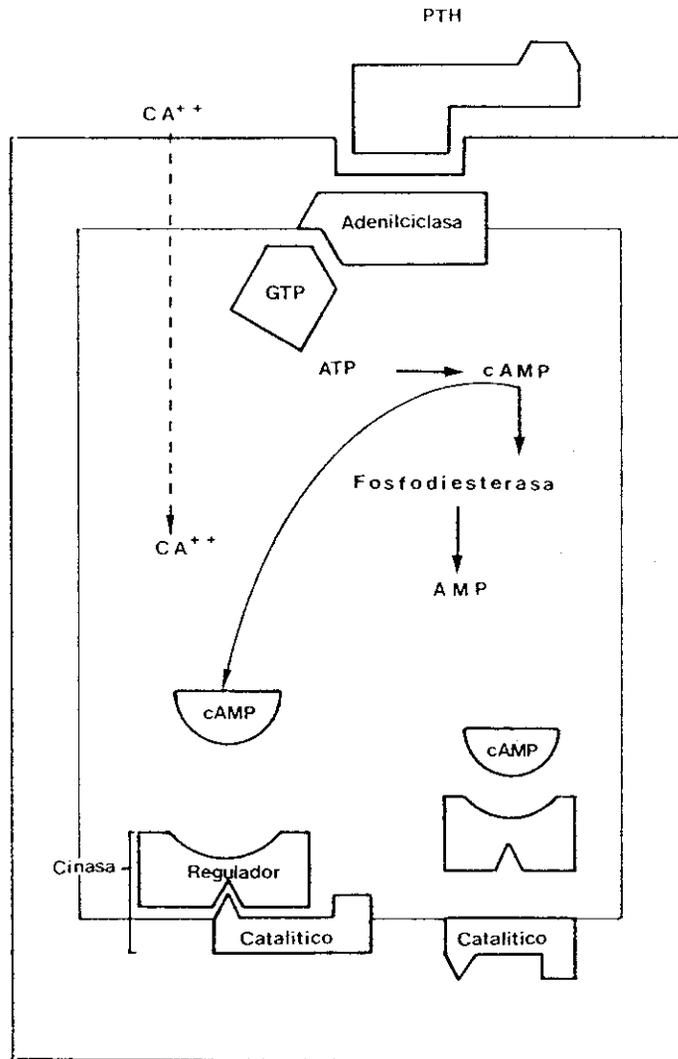


Fig.VIII. Modelo de acción de la PTH sobre la célula renal.

INTRODUCCION

Así la porción NH-2 terminal se une al receptor específico de membrana y estimula a la adenilciclase, lo que produce un aumento del AMPc. Como resultado aumenta el flujo de calcio. El AMPc puede activar una quinasa para fosforilar una proteína (S), que participa en el transporte de solutos.

Por otra parte es bien conocido que la concentración de Ca^{++} es el principal regulador de la PTH de tal manera que la tasa de síntesis y secreción varía inversamente con la calcemia. Por tanto niveles de Ca^{++} en el citosol pueden influir en las concentraciones de AMPc.(44).

Ramsanny y cols (45), han encontrado que la exposición de células renales a la gentamicina durante una hora previene la estimulación de la PTH.

A su vez Berridge y cols (46), demostraron que la PTH estimula la redistribución de la proteinkinasa, efecto que no sucede cuando las células están expuestas a la gentamicina.

Otro posible mecanismo de nefrotoxicidad es la influencia de los aminoglucósidos en el metabolismo de la mitocondria.(47).

Estudios in vitro han comprobado que la gentamicina ejerce un efecto inhibitorio directo sobre la fosforilación oxidativa mitocondrial.

El metabolismo respiratorio de la mitocondria incluye tres pasos fundamentales:

Glicolisis : Donde las glucosas fosforiladas (glucosa y fructosa) se rompen para dar acetyl.CoA.

Ciclo Krebs : Donde el catabolismo del acetyl.CoA, da lugar a la formación de CO₂ (producto final de la respiración) e H, utilizado en la reducción de los nucleótidos como NAD y FAD, dando como resultado NADH y FADH.

Reoxidación de NADH y FADH : Donde el electrón es transportado por una serie de transportadores al oxígeno para formar agua (otro producto final de la respiración). Este electrón transferido está unido a la síntesis de ATP (ADP+P). El ATP es una forma de energía almacenada utilizada por la célula para la síntesis de otros componentes.(48).

Cuando el aporte del sustrato respiratorio y del fosfato es amplio, se produce el máximo consumo de oxígeno por parte

INTRODUCCION

de la mitocondria, si la concentración de ADP en el medio es elevada y la de ATP baja (estado 3). Por otra parte cuando la concentración de ADP es elevada la mitocondria muestra tan solo un ritmo respiratorio muy bajo (estado 4).

Debido a estos procesos ,la fosforilación oxidativa juega un papel fundamental en todos los procesos metabólicos que tienen lugar en la mitocondria.(49).

Simmons y cols, (50), en un estudio realizado en las mitocondrias de células renales de ratas, tratadas con 40 mg/kg/día de gentamicina durante 7 días de tratamiento observaron que el aminoglucósido induce una estimulación del estado 4 y una inhibición del estado 3 del metabolismo mitocondrial.

Las figuras IX-X, recogen el comportamiento anteriormente descrito.

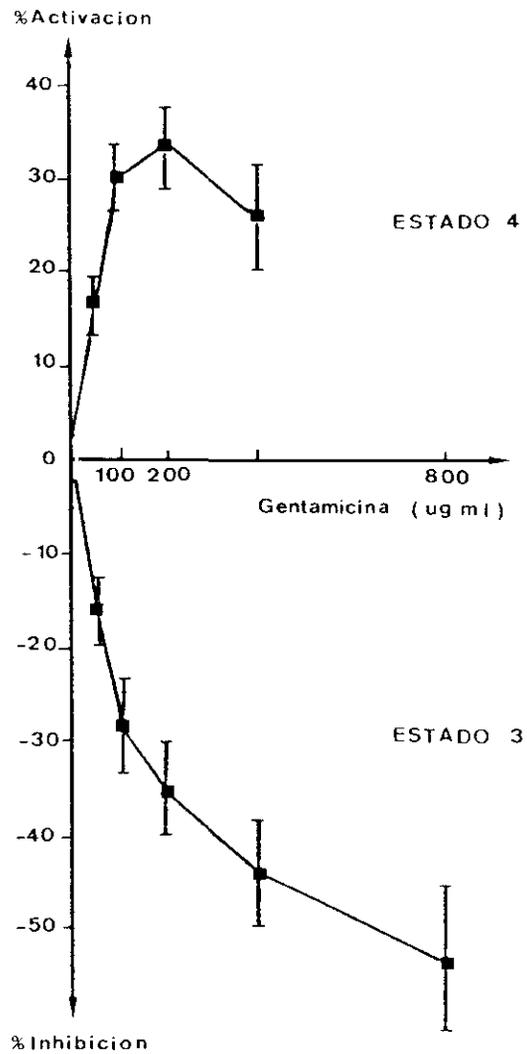


Fig.IX Acción de la gentamicina sobre la respiración mitocondrial.

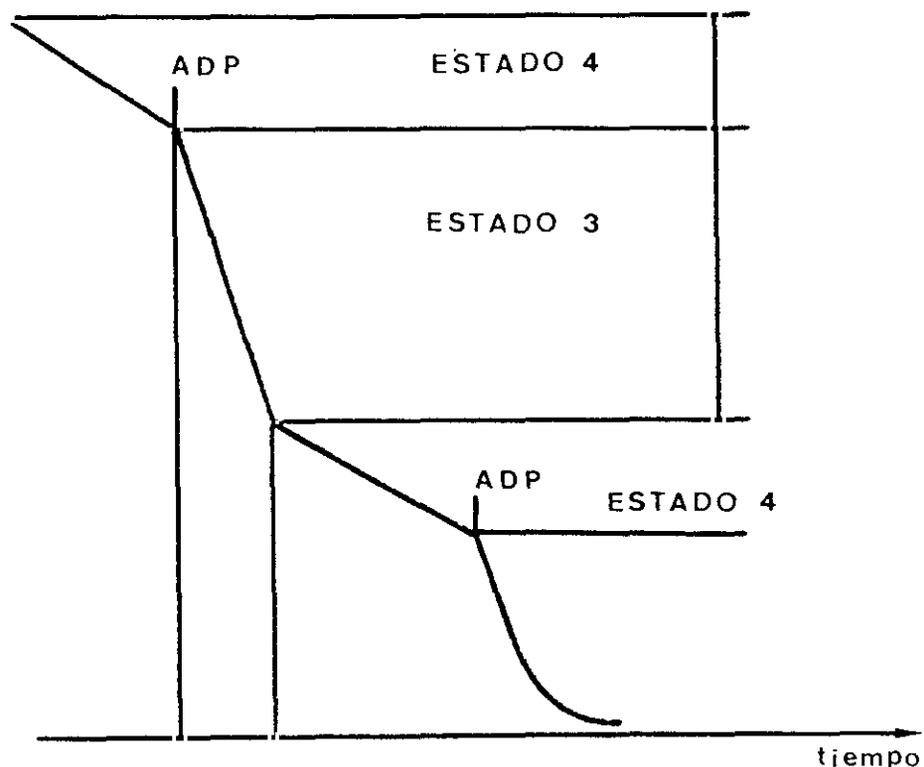


Fig. X. Respiración mitocondrial.

Dichos autores sostienen la hipótesis que el efecto producido por la gentamicina en el estado 3 mitocondrial está ligado a la inhibición del transporte electrónico, etapa fundamental de la fosforilación oxidativa. En relación a la alteración con el estado 4, presuponen que el aumento en la intensidad respiratoria inducida por gentamicina es debido a

un aumento en la excreción de H, necesario para la formación de ATP en la mitocondria. (51).

Las mitocondrias de las células tambien llevan a cabo el transporte activo intracelular de Ca⁺⁺, en un proceso que se halla energéticamente acoplado con el transporte electrónico.

Sastrasinh y cols, (52), en 1982 demostraron el efecto inhibidor que produce la gentamicina sobre el transporte de Ca⁺⁺ en las mitocondrias de las células renales.

El equilibrio entre la incorporacion de Ca⁺⁺ dependiente de energía, por parte de las mitocondrias y su liberación independiente de energía es un factor esencial en la regulación del nivel de Ca⁺⁺ en el citosol. Por tanto una disminución en la concentración del Ca⁺⁺ en el citosol provocará numerosos efectos indeseables ya que dicho catión es un importante elemento en la regulación de muchísimas actividades celulares.

Los mecanismos finales mediante los cuales los antibióticos aminoglucósidos generan la necrosis de las células tubulares, no están totalmente demostrados.

No obstante y de acuerdo con lo descrito en las páginas

INTRODUCCION

anteriores, resulta evidente que su impacto sobre las células se centra en las membranas plasmáticas, lisosomas y mitocondrias.

Numerosos estudios han descrito y asociado el tratamiento con estos antibióticos a cambios en la estructura y función de los componentes celulares. Por ello, los aminoglucósidos se configuran como elemento clave en el conocimiento de los procesos fisiopatológicos que conducen a la toxicidad y muerte celular.

Por último, y como resumen, la tabla (V), recoge las alteraciones bioquímicas que los antibióticos aminoglucósidos producen a nivel renal.

ALTERACIONES EN LA ESTRUCT. Y FUNCION DE LA MEMBRANA.

1.- Alteraciones en los fosfolípidos: unión del A.G. a los fosfolípidos de la membrana. Cambios en el contenido y metabolismo de la membrana. Desplazamiento de Ca^{++} unido a fosfolípidos.

2.- Alteraciones en el transporte: inhibición de la Na-K - ATPasa. Inhibición de la adenilciclasa.

ALTERACIONES EN LA MITOCONDRIA

1.- Disminución del estado 3 de la respiración.

2.- Incremento del estado 4 de la respiración.

3.- Inhibición del transporte de Ca^{++} .

ALTERACIONES EN LOS LISOSOMAS

1.- Inestabilidad de los lisosomas.

2.- Disminución de la actividad de las fosfolipasas.

Tabla. V. Aspectos bioquímicos de la nefrotoxicidad inducida por antibióticos aminoglucósidos.

INTRODUCCION

En relación con la valoración de la frecuencia de la nefrotoxicidad, es claro que la mayor parte del daño renal tiende a agruparse alrededor de determinados pacientes y de situaciones clínicas específicas, teniendo en cuenta que la nefrotoxicidad puede limitar la utilidad clínica de los aminoglucósidos, se hace preciso el poder reconocer los factores asociados a un mayor riesgo de daño renal.(53-54).

Uno de los factores relativos a los pacientes es la edad. A menudo se ha sugerido que la edad avanzada supone un factor de riesgo en la toxicidad de los aminoglucósidos. Debido a que la masa muscular se reduce con la edad y que el aclaramiento de creatinina endógena está en relación directa con la producción de creatinina por los músculos, se puede deducir que la concentración de creatinina en el suero de aquellos pacientes con mayor edad, refleja un aclaramiento mucho más bajo que en pacientes jóvenes con la misma concentración de creatinina en el suero.(55).

No tomar en consideración ni la edad del paciente ni el peso corporal del mismo podría implicar una sobredosificación en dichos individuos. Sin embargo en dos estudios efectuados en pacientes con edad avanzada, que recibieron dosis terapéuticas de gentamicina no se encontró una relación significativa entre nefrotoxicidad y edad.

Smith y Smith (54), son de la opinión de que la falsa

consideración de la edad como un factor de riesgo se ha debido a una utilización inadecuada de grupos de control y/o a una sobredosificación a pacientes de mayor edad en función de los niveles de creatinina en suero.

A la vista de estos resultados no se puede afirmar que la edad sea un factor de riesgo en la nefrotoxicidad inducida por los aminoglucósidos.

Otro factor a considerar es la existencia de una insuficiencia renal previa. Las pruebas que apoyan a la insuficiencia renal previa (56), como un factor de riesgo están también limitadas por las mismas deficiencias metodológicas mencionadas por Smith y Smith en el párrafo anterior.

Por tanto a menos que los niveles de aminoglucósido en suero sean utilizados para ajustar las dosis, estos pacientes son susceptibles de recibir una sobredosificación.

Existen estudios que confirman una mayor probabilidad en el aumento de la creatinina sérica durante el tratamiento con aminoglucósidos en los pacientes con daño renal preexistente. Otros estudios sin embargo no han sido capaces de confirmar este hecho.(57).

INTRODUCCION

Entre los factores relativos al medicamento se ha demostrado que existe una fuerte correlación entre la dosis del aminoglucósido administrado y la nefrotoxicidad.(58-59).

Estudios clínicos en los que se administran dosis inferiores a 3 mg/Kg/día de gentamicina demostraron una alta relación entre dosis y nefrotoxicidad.(60,54).

Otro aspecto importante a considerar es la duración y frecuencia de la administración, así numerosos estudios clínicos sugieren que tratamientos de más de diez días de duración pueden acarrear serios problemas de nefrotoxicidad. No obstante los primeros síntomas de daño renal pueden presentarse durante el quinto o sexto día de tratamiento.

Sin embargo existen algunos otros factores de riesgo que todavía no han sido demostrados, entre ellos podríamos mencionar el sexo.

Bennett y cols (61), sugieren que la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina es más patente en ratas macho que en hembras de la raza Fisher 344.

Otros autores como Vaamonde y cols han sido incapaces de

demostrar este hecho en ratas de la raza Sprague-Dawle.(62).

Por tanto las investigaciones no han alcanzado una conclusión definitiva sobre este punto.

Los aspectos clínicos de la nefrotoxicidad inducida por aminoglucósidos han sido bien estudiados tanto en seres humanos como en animales de experimentación.(20).

Habitualmente aparece un moderado incremento en el BUN y en la creatinina de forma gradual durante el tratamiento o a veces incluso después del cese del mismo.

La enzimuria es una de las primeras manifestaciones urinarias, que pueden aparecer durante las primeras 24 horas de tratamiento , tras la administración de una dosis terapéutica del aminoglucósido (63-64). Han sido detectadas tanto enzimas de las membranas de borde de cepillo como la alanina-aminopeptidasa o la gamma-glutamyl-transferasa, como enzimas lisosomiales por ejemplo la N-acetil-beta-D-glucosaminidasa.(65).

En un estudio realizado por Mondorf y cols (64) en el que
15 pacientes fueron tratados con amicacina, gentamicina,

INTRODUCCION

sisomicina, tobramicina y netilmicina, en dosis intramuscular de 10 mg/kg para la amikacina y de 3 mg/kg para el resto de los aminoglucósidos durante 3 días se observó que entre los dos y los tres primeros días los niveles de alanina-aminopeptidasa eran mucho más elevados que los del grupo control. Figura. XI.

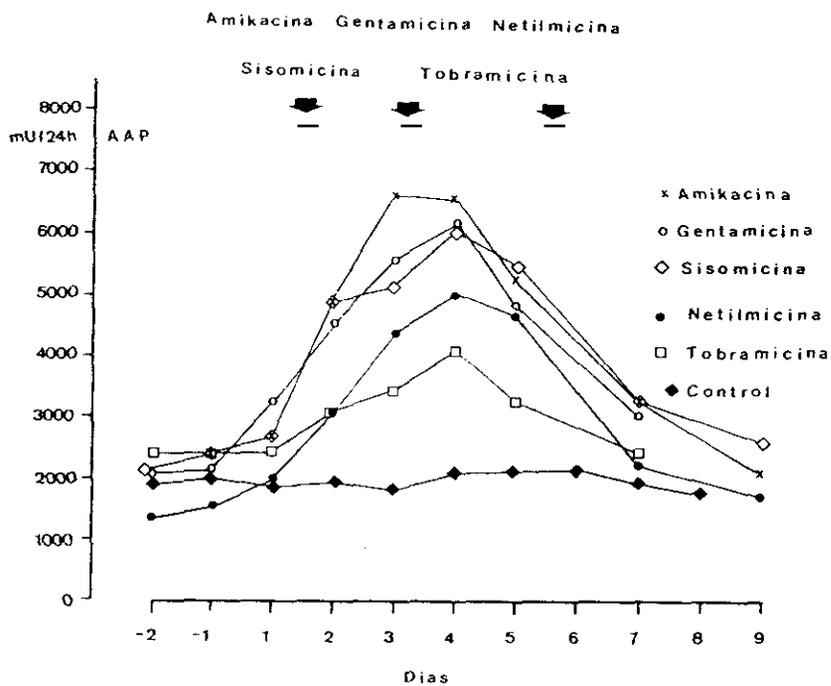


Fig. XI. Niveles de alanina-aminopeptidasa durante tres días consecutivos de tratamiento con aminoglucósidos.

El máximo interés que supone una detección precoz de enzimuria de este tipo, radica en su actividad como indicador de un posible daño tubular.

Otra evidencia de disfunción en el túbulo proximal es la excreción urinaria de Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, P⁺⁺, aminoácidos, glucosa y proteínas de bajo peso molecular como la beta-2-microglobulina.(66).

La tabla VI , resume las manifestaciones clínicas mas relevantes citadas anteriormente.

SANGRE:	▲ Nitrogeno ureico	.- Hipocalcemia
	▲ Creatinina	.- Hipomagnesemia
ORINA:	▲ Excrecion Na ⁺	.- Hipo osmolaridad
	. Cuerpos mieloides	.- Enzimuria
RENAL:	▼ Filtración Glomerular	
	▼ Capacidad concentración urinaria	

Tabla. VI. Algunas de las manifestaciones clínicas de la nefrotoxicidad inducida por antibióticos aminoglucósidos.

INTRODUCCION

Una vez desarrollados con mayor o menor detalle los mecanismos de nefrotoxicidad inducida por la gentamicina, procederemos a continuación a examinar los posibles factores que inciden en la prevención del daño renal.

PREVENCION DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR
GENTAMICINA

Como hemos visto hasta ahora, la administración de aminoglucósidos está íntimamente ligada a la aparición de daño renal agudo. La gentamicina ha sido ámpliamente estudiada como prototipo de este grupo de fármacos, y utilizada como modelo de nefrotoxicidad.

A lo largo de estos años se ha tratado, a través de diferentes modelos experimentales, de prevenir o atenuar el desarrollo del daño renal agudo. Se ha intentado proteger a los animales de experimentación de los efectos nefrotóxicos producidos por la gentamicina por medio de la hidratación, de la ingesta de grandes cantidades de sodio, de la administración de diuréticos y de aminoácidos. Sin embargo los resultados obtenidos han sido muy poco satisfactorios. (67-68).

Vaamonde y colaboradores, (69) han demostrado que ratas con diabetes mellitus presentan una clara protección a desarrollar un daño renal agudo inducido por gentamicina.

INTRODUCCION

En dicho estudio la diabetes fue provocada tras la administración de estreptozocina a la dosis de 50-60 mg/Kg, 4-6 semanas antes de comenzar el estudio.

Todas las ratas diabéticas presentaban una marcada hiperglucemia (>500 mg/dl), poliúria (>70 ml/día) y glucosuria (8-10 g/día). La dosis de gentamicina administrada tanto en la ratas control como en la diabéticas fue de 40 mg/Kg/día por vía subcutánea, durante 14 días.

Las ratas control desarrollaron fallo renal agudo, con lisoenzimuria y necrosis tubular aguda, mientras que las ratas diabéticas manifestaron protección morfológica y funcional.

La tabla VII recoge los resultados obtenidos en dicha experiencia. (70)

	CONTROL (C)*	P (DMvsC)	DIABETICAS (DM)*	P (DADvsDM)	DIABETICAS (DAD)**
BASALES:					
.- Glucosa (mg/100 ml)	126±5	<0.001	615±23	N.S	605±29
.- Vol.orina (ml/día)	11±1	<0.001	109±9	<0.05	142±12
.- Acl. creat. (ml/min)	11.6±0.2	-	2.3±0.2	N.S	2.2±0.2
Tto. GENTAMICINA:					
.- Cambios Acl. creatinina (%)	85±6	<0.001	33±5	N.S	25±8
.- Lisoenzimuria (mcg/g/día)	5211±1549		-	-	-
.- Gent. corteza (mcg/g)	405±34	<0.01	251±26	N.S	306±36

Tabla VII. Parámetros bioquímicos tras la administración de Gentamicina. (D.M. Diabetes Mellitus ; D.A.D. Ratas diabéticas con elevada dosis de Gentamicina.), (* Dosis de 40 mg/kg de Gentamicina tras 14 días de tratamiento; ** Dosis de 70 mg/Kg de Gentamicina tras 14 días de tratamiento).

INTRODUCCION

Estudios más recientes realizados por los mismos autores demuestran que la protección de las ratas diabéticas se produce durante los primeros días de la administración del antibiótico (aproximadamente el segundo o tercer día). (71).

Otro de los fenómenos observados durante esta experiencia fue que una dosis masiva de gentamicina afectó de forma fulminante a la supervivencia de las ratas. Así el 100% de las ratas control tratadas con 200 mg/kg/día durante 11 días, murieron al 6° día de tratamiento mientras las ratas diabéticas con la misma dosis de gentamicina sobrevivieron durante todo el ensayo.

Las ratas control mostraron, además, una elevada enzimuria que apareció durante el primer día de tratamiento. En las ratas diabéticas esta fue mínima o casi inapreciable.

En cuanto al contenido en gentamicina en la corteza renal, las ratas diabéticas presentaron una menor acumulación del aminoglucósido (261 ± 55 mcg/g) de tejido frente a (849 ± 58 mcg/g) de tejido en las ratas control.

En la tabla VIII, podemos observar también, el efecto en la supervivencia de las ratas al desaparecer la diabetes mellitus inducida por estreptozocina.

Nº DE ANIMALES VIVOS TRAS LA ADMIN. DE GENTAMICINA													
DIAS:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Gentamicina riñon (mcg/g)
CONTROL	3	3	3	3	2	2	1	0	0	0	0	0	849±58
DIABETES MELLITUS	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	261±55
ESTREPTOZ.	3	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	625±32

Tabla VIII. Efecto de supervivencia en ratas tras la administración de 200 mg/Kg de gentamicina.

Estos animales que espontáneamente perdieron el estado diabético, con niveles de glucosa (< de 200 mg/dl), murieron 5 días después de iniciar el tratamiento presentando además una extensa necrosis tubular. Asimismo el contenido de gentamicina en la corteza renal fue de 625±32 mcg/g de tejido, más bajo que el hallado en las ratas control y más elevado que

INTRODUCCION

en las ratas diabéticas.

Todo ello sugirió que el estado diabético juega un papel importante en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina.

A la vista de estos resultados se planteó la hipótesis de la existencia de una posible ruta extrarenal de excreción de la gentamicina.

Alpert y colaboradores, (72) realizaron un estudio en ratas diabéticas (tratadas anteriormente con estreptozocina) y ratas control a las que se les administró una dosis de gentamicina de 50 mg/kg durante 3 días. Una vez sacrificados los animales se determinaron los niveles de gentamicina en riñón, hígado, pulmones, adrenales, páncreas, cartílago y músculo estriado. De igual forma se tomaron muestras de sangre y orina.

Los niveles de gentamicina en la corteza renal fueron menores en las ratas diabéticas (476 ± 27) mcg/g de tejido frente a (1150 ± 156) mcg/g de tejido en las ratas control. Los niveles de gentamicina fueron también menores en hígado, pulmón y cartílago en las ratas diabéticas.

Los resultados sugieren la existencia de una posible ruta metabólica desconocida en las ratas diabéticas como causa de la menor acumulación de gentamicina en los tejidos. Ya se explicó anteriormente que las ratas con una diabetes inducida por estreptozotocina 4 ó 5 semanas antes de comenzar el tratamiento con gentamicina, mostraban una protección morfológica y funcional frente al daño renal producido por la gentamicina.

Con el objeto de observar el papel que juega la duración, referida al tiempo, del estado diabético "per se" en la prevención de la nefrotoxicidad, Vaamonde y colaboradores(73), establecieron tres grupos de ratas diabéticas, cuya diabetes había sido inducida con diferentes intervalos de duración, 5 días, 5 semanas y 5 meses antes de comenzar el ensayo con gentamicina.

La diabetes fue provocada al igual que en los trabajos anteriores con una dosis de 50-65 mg/Kg de estreptozocina, por vía endovenosa. La dosis de gentamicina administrada fue en los tres casos de 40 mg/Kg/día, durante 9 días de tratamiento.

La figura XII, recoge los cambios producidos en el aclaramiento renal de creatinina después de la administración de gentamicina.

INTRODUCCION

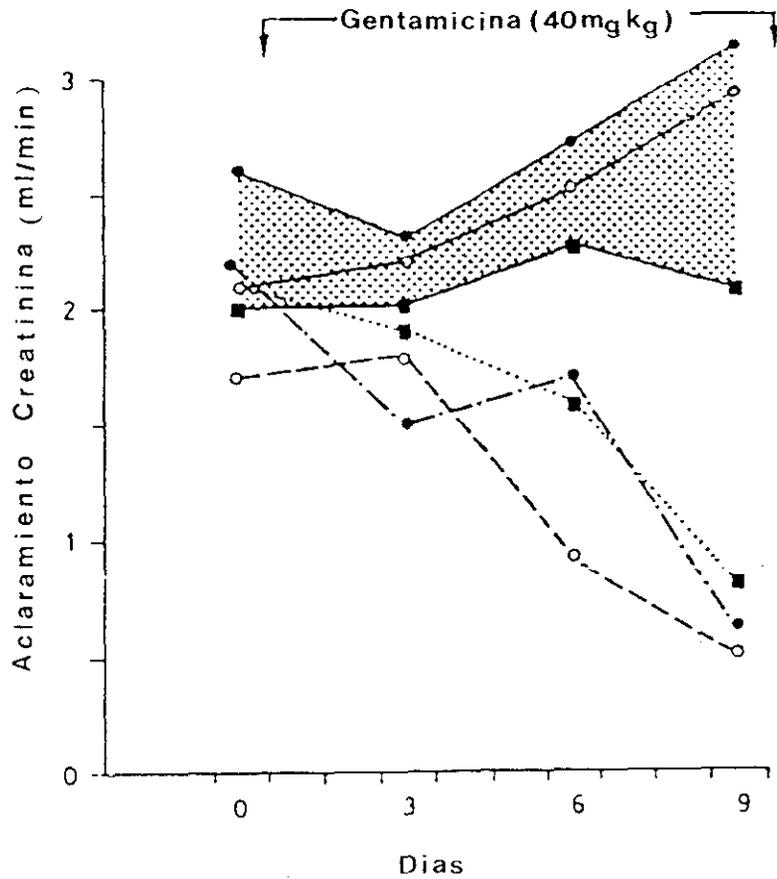


Fig.XII. Efecto de la administración de Gentamicina sobre el aclaramiento de creatinina. D.M. Diabetes Mellitus.

D.M. (5 días) ■—■ ; D.M. (5 semanas) ○—○ ; D.M. (5 meses) ●—● C. Control. C. (5 días) ■---■ ; C. (5 semanas) ○---○ ; C. (5 meses) ●---● .

El aclaramiento de creatinina en las ratas aumentó un $36\pm 6\%$, un $20\pm 9\%$ y un $19\pm 7\%$, para la diabetes producida 5 días, 5 semanas y 5 meses antes del ensayo respectivamente.

Por el contrario los tres grupos de ratas controles, no diabéticas, pero igualmente tratadas con el aminoglucósido, manifestaron un progresivo descenso del aclaramiento de creatinina siendo de $-60\pm 7\%$, $-72\pm 9\%$ y de $-71\pm 7\%$ respectivamente.

La concentración de creatinina en plasma permaneció inalterada en los tres grupos de ratas diabéticas, mientras que en los grupos control se produjo un incremento durante los primeros días de tratamiento con la gentamicina.

En cuanto al contenido de gentamicina en la corteza renal, las ratas diabéticas mostraron una menor concentración de gentamicina que sus respectivos controles. La tabla IX, recoge los citados valores.

INTRODUCCION

GRUPO	LISOENZIMURIA (mcg/día)	PESO RIÑON (g)	GENTAMICINA (mcg/g)
BREVE: 5 días de duración			
D.M	0	1.46±0.07	159±14
CONTROL	112±38	1.26±0.04	447±38
INTERMEDIO: 5 semanas de duración			
D.M	0	-	-
CONTROL	1023±298	-	-
PROLONGADO: 5 meses de duración			
D.M	0	1.51±0.05	274±40
CONTROL	1029±484	1.25±0.07	513±28

Tabla IX. Niveles de gentamicina en la corteza renal.

El examen morfológico del túbulo proximal, mostró una gran variedad de grados de necrosis en las ratas control, desde el grado 1, con una ligera lesión hasta el grado 4 con

necrosis total. Por el contrario no hubo evidencia de lesión en ninguno de los grupos de ratas diabéticas, grado 0. Estos riñones presentaban una total integridad de las células tubulares. Tabla X.

GRUPO	Nº ANIMALES	NECROSIS TUBULAR	
		media	intervalo
DIABETICAS :			
BREVE	4	0 ²	-
INTERMEDIO	5	0 ²	-
PROLONGADO	6	0 ²	-
CONTROL :			
BREVE	6	3.0±0.5	2-3.5
INTERMEDIO	5	2.1±0.3	1-3
PROLONGADO	6	3.7±2	3-4

Tabla. X. Grados de necrosis tubular tras el tratamiento con gentamicina.

Además y como era de esperar, ninguno de los dos grupos (controles y diabéticas), desarrollaron lesiones glomerulares.

INTRODUCCION

Tras los resultados obtenidos se llegó a la conclusión de que la duración en tiempo de la diabetes inducida por la estreptozotocina, no influye en modo alguno en la prevención de la nefrotoxicidad. No obstante lo que si queda manifiesto es la prevención de la función y morfología renal, asociada con el bajo contenido de gentamicina en la corteza de las ratas diabéticas frente a las ratas control (no diabéticas).

Gouvea y colaboradores, (74), tras observar que las ratas tratadas con estreptozocina mostraban una marcada diuresis (glicosuria de 10 a 12 g/día), sugirieron que este hecho podría ser el responsable de la prevención al daño renal inducido por gentamicina.

Como la recaptación de gentamicina ocurre principalmente en el túbulo proximal, cabe la posibilidad de que la intensa glucosuria que presentaban las ratas diabéticas interfiriera en la incorporación de gentamicina, disminuyendo así la acumulación intracelular y por tanto el daño renal.

Con el objeto de demostrar si la glucosuria juega algún papel en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, dichos autores realizaron un estudio en ratas no diabéticas a las que se les administró 360 mg/día de

floricina, un inhibidor competitivo del transporte de glucosa en el túbulo proximal, provocando así una marcada glucosuria y 40 mg/Kg/día de gentamicina durante 15 días. La experiencia se realizó frente a ratas no-glucosúricas como control.

Los resultados obtenidos tras el tratamiento, muestran que los animales no glucosúricos desarrollaron los típicos síntomas de daño renal, lisoenzimuria (2147±701)mcg/día, elevación de la concentración de creatinina en el plasma y reducción del aclaramiento de creatinina.

El contenido de gentamicina en la corteza renal fue de 395±25 mcg/g, manifestando evidencias histológicas de necrosis tubular.

La respuesta de los animales tratados con floricina y gentamicina fue muy similar al grupo anterior, presentando una elevada lisoenzimuria y una acumulación cortical de gentamicina de 360±20 mcg/g de tejido. Figura. XIII.

INTRODUCCION

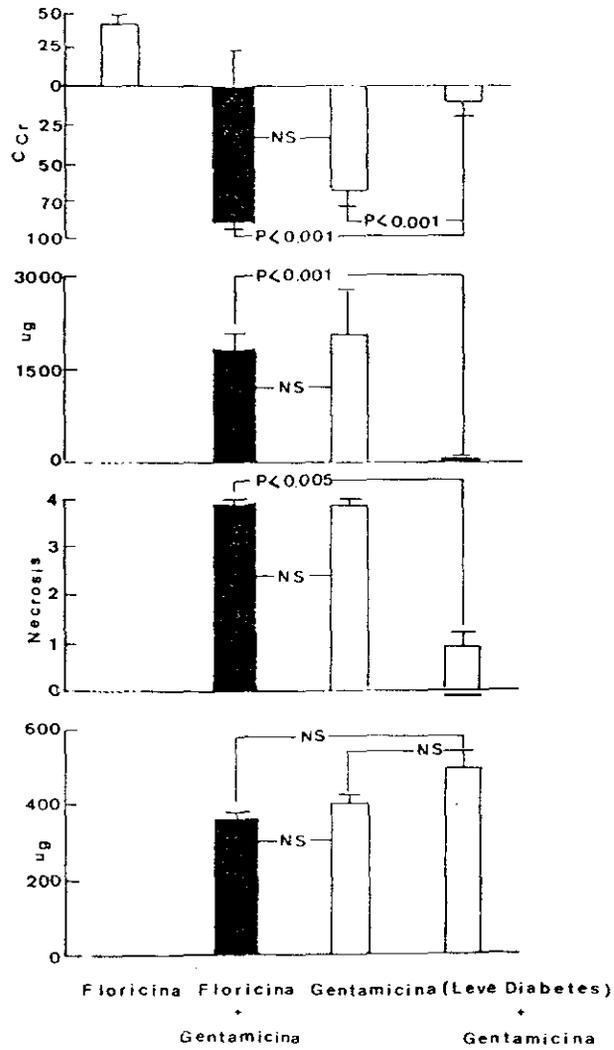


Fig. XIII. Modificaciones en el aclaramiento de creatinina, lisoenzimuria, necrosis tubular y contenido renal de gentamicina.

Podemos observar que las ratas diabéticas que además fueron tratadas con dosis terapéuticas de insulina, presentaban un similar contenido de gentamicina en la corteza renal. Debido sin duda a la disminución del estado diabético y por tanto a la desprotección frente al daño renal inducido por el aminoglucósido.(75).

Los resultados obtenidos invitan a pensar que la glucosuria "per se", no puede explicar la protección al daño renal que se produce en el tratamiento con gentamicina.

Con el fin de explicar los posibles mecanismos por los cuales la diabetes mellitus juega un papel importante en la prevención de la nefrotoxicidad se hizo preciso realizar un estudio farmacocinético en estos animales.(76).

Para ello dos grupos de ratas, diabéticas (tratadas con estreptozotocina como agente inductor de la diabetes) y no diabéticas, recibieron dosis de gentamicina de 10, 40 y 70 mg/kg.

Las ratas diabéticas eran ya hiperglucémicas (>500mg/dl) y poliúricas (>70 ml/día), el día del ensayo.

INTRODUCCION

Los parámetros farmacocinéticos mas destacados se resumen en la tabla XI.

	GENT. (10 mg/Kg)		GENT. (40 mg/Kg)		GENT. (70 mg/Kg)
	C	DM	C	DM	DM
Nº	5	5	7	6	4
$t_{1/2}$ (min)	33±3	25±1	30±2	24±1	23±1
Vd (l/Kg)	.36±.3	.36±.05	.29±.02	.23±.02	.40±.03
Q_p (ml/min/100g) -		.99±.12	.67±.04	.96±.04	1.23±.1
Gent. (mcg/g)	603±39	159±16	913±63	404±27	536±81

Tabla.XI.Parámetros farmacocinéticos determinados tras la administración de 10, 40 y 70 mg/Kg de gentamicina.

C. Control ; D.M. Diabetes Mellitus.

Los niveles plasmáticos de gentamicina en las ratas diabéticas, 20' después de la administración de la dosis de 40 mg/kg, eran inferiores que las detectadas en las ratas control.

Diferencias similares fueron observadas después de la dosis de 10 y 70 mg/kg.

Como se observa en la tabla XI, el volumen de distribución no presenta diferencias significativas entre los valores de las ratas diabéticas y las ratas controles, en las distintas dosis empleadas.

En cuanto a la concentración de gentamicina en la corteza renal, los animales diabéticos que recibieron 10 y 40 mg/Kg de gentamicina, acumularon menor cantidad del aminoglucósido que sus correspondientes grupos controles.

De acuerdo con los resultados obtenidos Vaamonde y colaboradores (76), sugieren que la eliminación de gentamicina en las ratas diabéticas es más rápida, debido a la menor semivida y elevado clearance plasmático, que en las ratas control.

Este comportamiento diferencial aparece dentro de los primeros 20 minutos después de la administración de gentamicina y está asociada a la escasa recaptación del aminoglucósido en la corteza renal.

INTRODUCCION

A pesar de que no existen evidencias del metabolismo de la gentamicina en el organismo , los datos sugieren que los animales diabéticos presentan exaltado el aclaramiento del antibiótico.

No obstante será necesario continuar en el estudio de los modelos farmacocinéticos con el fin de explicar la relación entre dichos parámetros farmacocinéticos y la prevención de la nefrotoxicidad.

Ya explicamos anteriormente al referirnos a los posibles mecanismos de nefrotoxicidad, que los fosfolípidos de la membrana desempeñan una función muy importante en la regulación de la permeabilidad de las membranas al Ca^{++} (3).

Por ello el Ca^{++} parece actuar como un inhibidor competitivo en la interacción de la gentamicina con la membrana de las células renales, sugiriéndose así el posible papel preventivo en el desarrollo de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina.

Con el fin de estudiar este aspecto, Bennet y colaboradores realizaron una experiencia en ratas a las que se les suministró un alto contenido de calcio en la dieta (4%), conjuntamente con una dosis de gentamicina de 40

INTRODUCCION

mg/Kg/día durante 14 días de tratamiento. Las ratas control recibieron idéntica dosis del aminoglucósido y una dieta con un contenido normal en calcio (0.5%).(77).

Los resultados muestran que tras 7 días de tratamiento los niveles de creatinina en el suero son mucho más elevados en las ratas control Figura. XIV, siendo la mortalidad del 100%. Sin embargo las ratas con alto contenido de calcio en la dieta sobrevivieron los 14 días de tratamiento.

INTRODUCCION

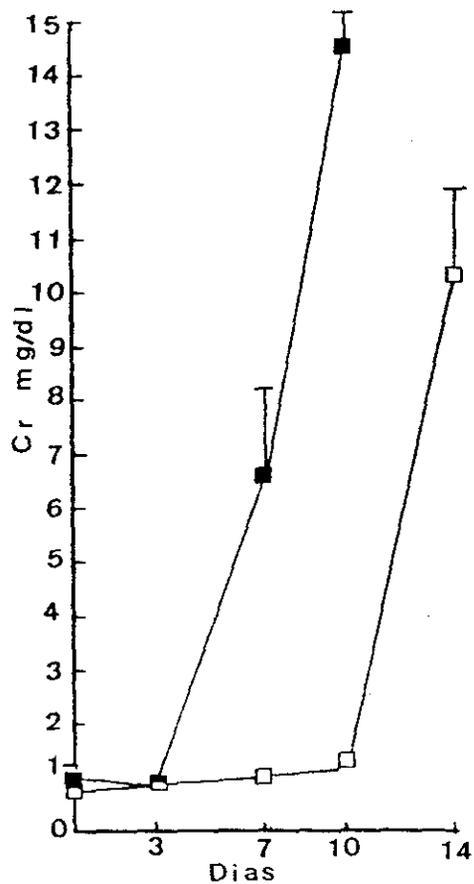


Fig. XIV. Niveles de creatinina en suero. □ .Con Ca⁺⁺.
■ .Control.

En el tercer día de tratamiento, la acumulación de gentamicina en tejido renal fue significativamente más baja en

las ratas que recibieron una dieta rica en calcio, que en las ratas control. Figura. XV.(78).

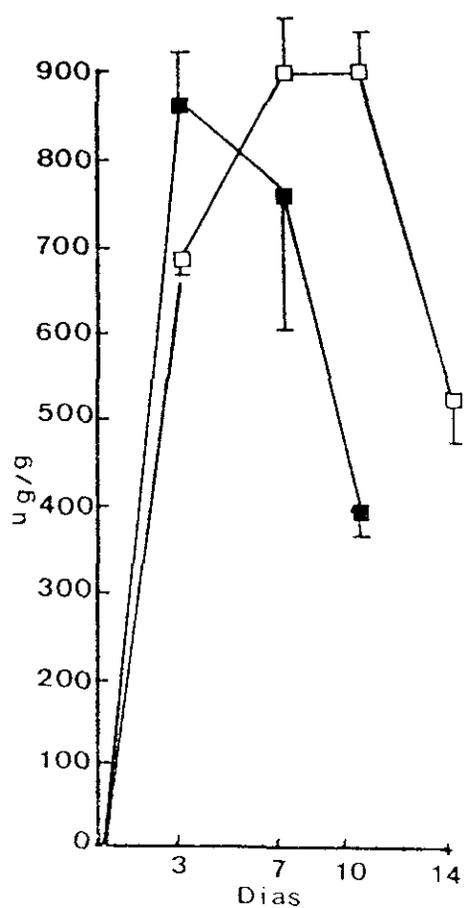


Fig. XV. Niveles de Gentamicina en corteza renal.

□ .Con Ca++. ■ .Control.

INTRODUCCION

La administración de calcio en la dieta está asociada a una disminución y retraso en el daño renal, ya que tras 7 días de tratamiento las ratas controles manifestaban un 100% de necrosis del tejido renal, sin embargo en las ratas tratadas con el 4% de calcio en la dieta la necrosis afectó solo al 25% de los túbulos proximales.

Es por ello que la administración de altas dosis de calcio en la dieta está directamente ligada a una disminución de la toxicidad intracelular que genera la administración continuada de gentamicina.

Estudios realizados en las mitocondrias de las células de la corteza renal, muestran que tras la administración de un 4% de CO_3 Ca como suplemento de la dieta, conjuntamente con una dosis de gentamicina de 100 mg/kg/día durante 10 días de tratamiento, no aparece una disminución del estado 3 en la respiración mitocondrial. Hecho que se manifiesta en las ratas control cuyo contenido de calcio en la dieta era de un 0.5% .(79).

Humes y colaboradores, (80), confirman estos resultados y sugieren además que el calcio interfiere en los lugares de unión de la gentamicina en las membranas con borde de cepillo de las células renales.

La gentamicina, un polication parece unirse electrostáticamente a los fosfolípidos aniónicos de las membranas plasmáticas. El efecto protector del calcio aportado en la dieta podría deberse a la facultad de este catión para actuar como un competidor en la unión de la gentamicina a la membrana plasmática de las células renales.

No obstante Elliot y colaboradores, (81), proponen que el suplemento de calcio puede disminuir la nefrotoxicidad sin alterar la concentración del calcio en el suero (calcio filtrable).

Por tanto el calcio podría atenuar la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina indirectamente.

Una dieta rica en calcio favorece la supresión de la actividad de la PTH, pudiendo disminuir dicha nefrotoxicidad. Por otra parte la estimulación de la PTH aumenta los niveles renales de los fosfolípidos, los cuales juegan un papel muy importante en la unión de la gentamicina a las membranas con borde de cepillo, multiplicándose así los lugares de unión del aminoglucósido y potenciando la nefrotoxicidad.

Es por ello que si el cometido del calcio en la prevención de la nefrotoxicidad es a través de la supresión de la

INTRODUCCION

secreción de la PTH, una paratiroidectomización (PTX), presentaría los mismos efectos a pesar de la hipocalcemia que se manifiesta al cauterizar dicha glándula.

Bajo el mismo razonamiento la estimulación de la PTH (disminuyendo el calcio de la dieta), produciría el aumento de la toxicidad inducida por la gentamicina, incluso cuando los niveles de calcio en la sangre fueran normales.

Inversamente si el efecto preventivo del calcio es directo (no vía PTH), entonces tras la PTX (situación de hipocalcemia), existiría un marcado efecto nefrotóxico.

Con el fin de confirmar dicha hipótesis, Elliot y colaboradores, (82), realizaron varios ensayos en ratas paratiroidectomizadas las cuales fueron tratadas con 20 mg/Kg/día de gentamicina durante 21 días, con una dieta del 1.2% de calcio (valores normales de las dietas comerciales del 0.8-1.2%). El estudio se efectuó frente a ratas controles, recibiendo la misma dosis del aminoglucósido y sometidas a la estimulación de la secreción de PTH, mediante la disminución del calcio en la dieta, (0.1%).

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de creatinina sérica es mucho más elevada en los animales

control.Figura. XVI.

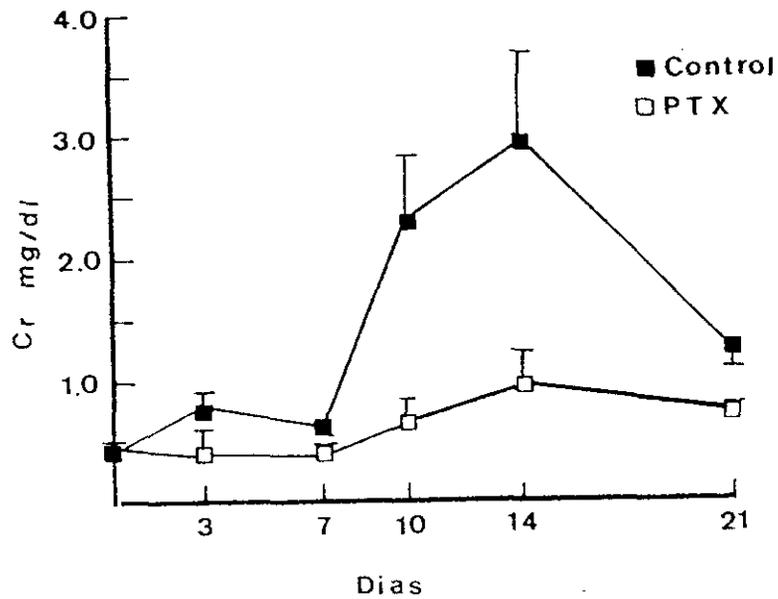


Fig. XVI .Niveles de creatinina sérica en ratas PTX y ratas control.

El estudio histológico renal, refleja una lesión tubular severa en las ratas control, frente a la aparición de un moderado número de lisosomas alterados y una ausencia de necrosis tubular en los animales PTX.

INTRODUCCION

Todos estos datos demuestran que la PTX disminuye la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina.

Ya que las ratas PTX sufrían una hipocalcemia, Figura XIX, los resultados sugieren que la PTH y el calcio tienen efectos separados en la prevención de la toxicidad renal.

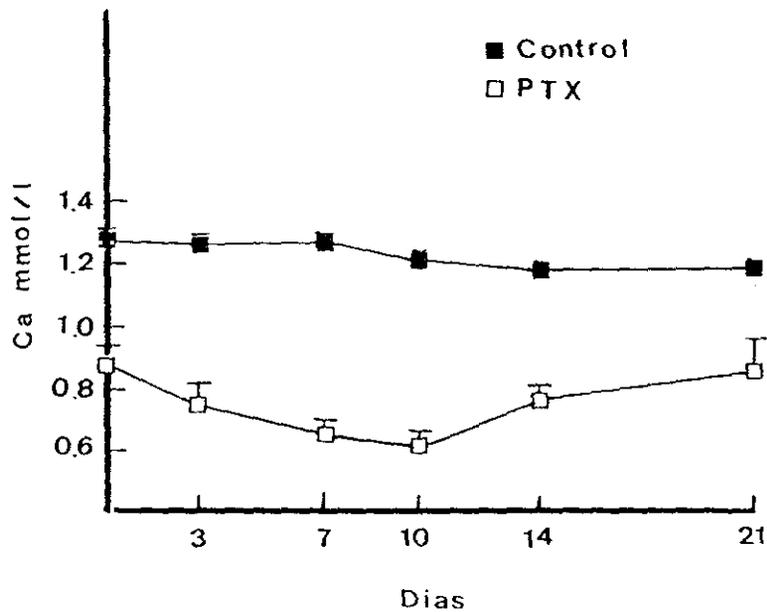


Fig.XVII. Concentración sérica de Ca⁺⁺.

INTRODUCCION

De acuerdo con todo lo expuesto anteriormente los tres posibles mecanismos por los cuales la PTH puede aumentar la nefrotoxicidad son: primero, la PTH aumenta los niveles de fosfatidilinositol. Segundo, la estimulación de la PTH podría aumentar la nefrotoxicidad inducida por gentamicina alterando el metabolismo de los fosfolípidos. Y por último, la PTH incrementaría dicha toxicidad a través de una alteración en la afluencia de Ca^{++} a la células tubulares renales.

Recientemente los bloqueantes de los canales de Ca^{++} han sido estudiados por sus efectos específicos sobre la PTH.(83). El verapamil parece inducir una supresión en la secreción de dicha hormona, así como una alteración de la afluencia del calcio a la membrana citoplasmática y por tanto una disminución en el contenido de calcio en las células renales. (84-85).

O B J E T I V O Y P L A N T E A M I E N T O

El objetivo de este trabajo se centra en analizar, desde el punto de vista farmacocinético, una serie de factores que condicionan la nefrotoxicidad inducida por los antibióticos aminoglucósidos; y aportar, si es posible, información que permita la utilización clínica de estos compuestos sin los riesgos que implica dicha utilización en el momento actual.

Existe abundante documentación que confirma que la Diabetes Mellitus, en animal de experimentación, protege frente a la nefrotoxicidad inducida por la utilización de estos antibióticos.

De igual forma, existen numerosos datos bibliográficos que ponen de manifiesto que el calcio, directa o indirectamente, protege del deterioro renal que se produce tras la utilización del aminoglucósido en tratamientos prolongados.

Por todas estas razones, el objetivo de esta memoria se centra en dos puntos:

I.- La Diabetes Mellitus en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Estudio farmacocinético en pacientes insuficientes renales, diabéticos y no diabéticos, sometidos a hemodiálisis.

OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO

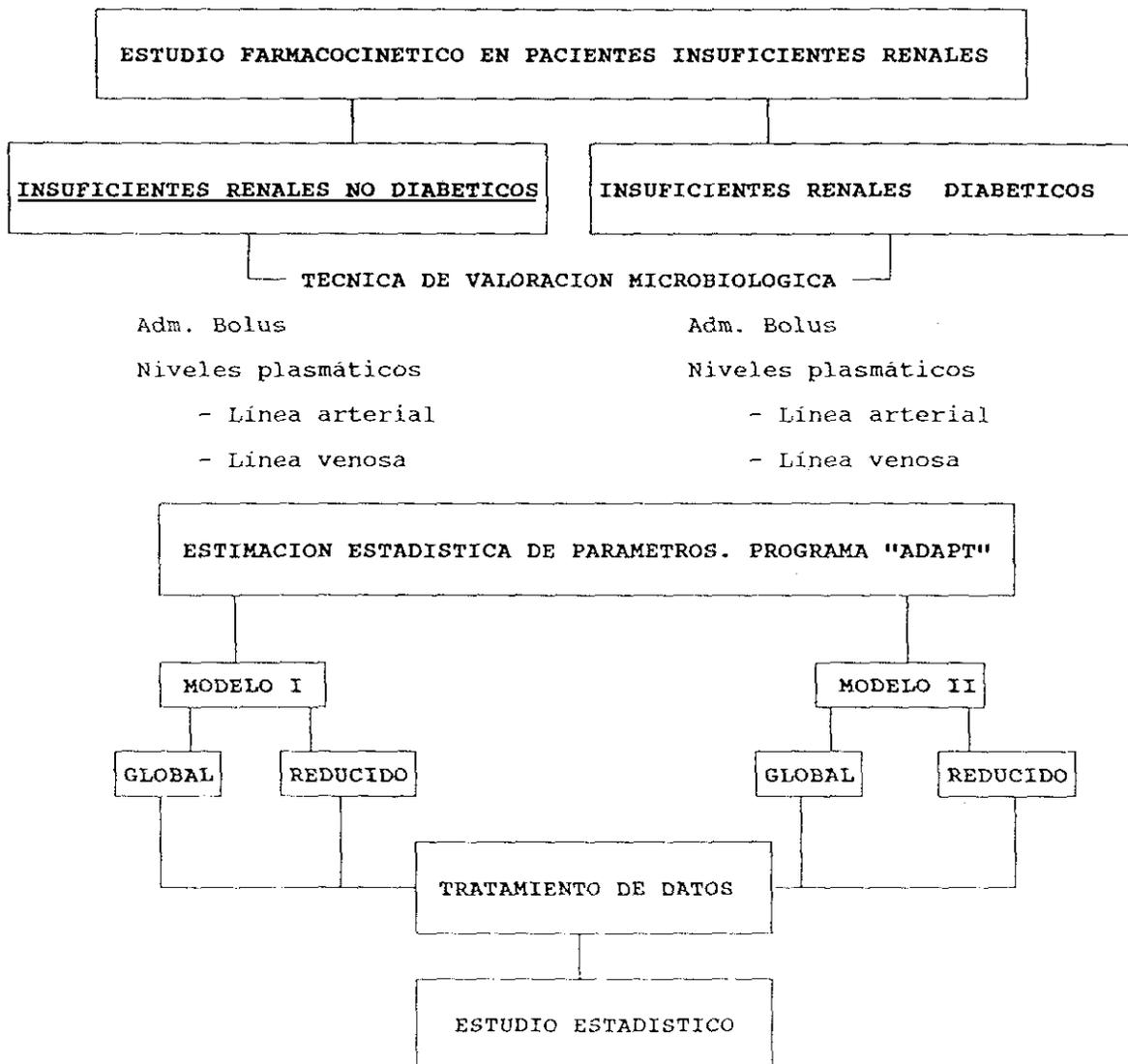
II.- El calcio en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Estudio farmacocinético en animales de experimentación en tratamiento con dosis múltiple.

En ambos casos, lo que se pretende es realizar el análisis farmacocinético que nos permita evaluar, a través de los parámetros estimados, las posibles diferencias, que nos confirmen si de verdad se manifiesta un comportamiento distinto del antibiótico entre un paciente diabético y no diabético o si en realidad la presencia de calcio reduce el fallo renal agudo inducido por la gentamicina en tratamiento prolongado.

Se trata, por tanto, de una evaluación farmacocinética que nos permita definir, en nuestras condiciones de trabajo, cuales son los parámetros modificados y en que cuantía se produce dicha modificación.

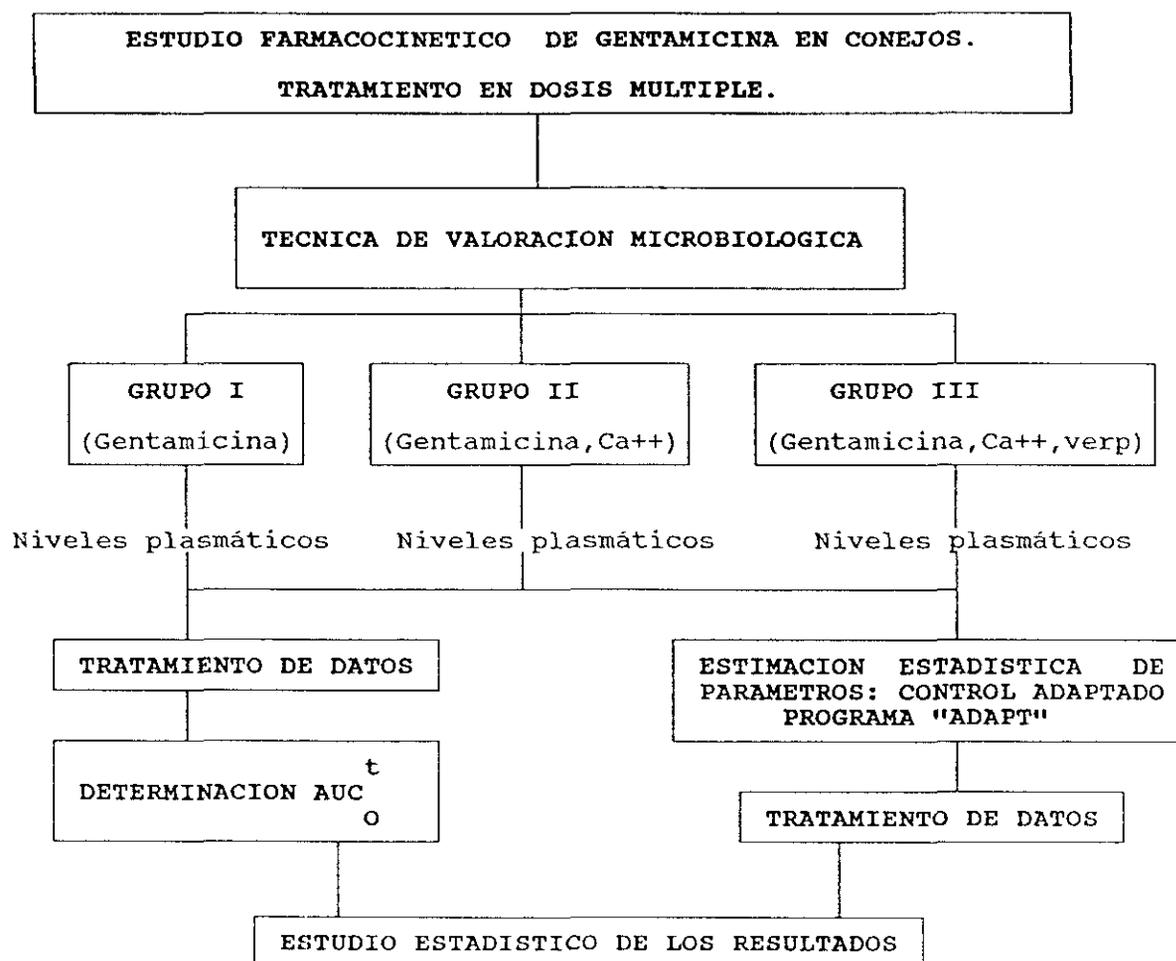
Para ello, el planteamiento del estudio se lleva a cabo de acuerdo con los siguientes esquemas:

ESQUEMA I.

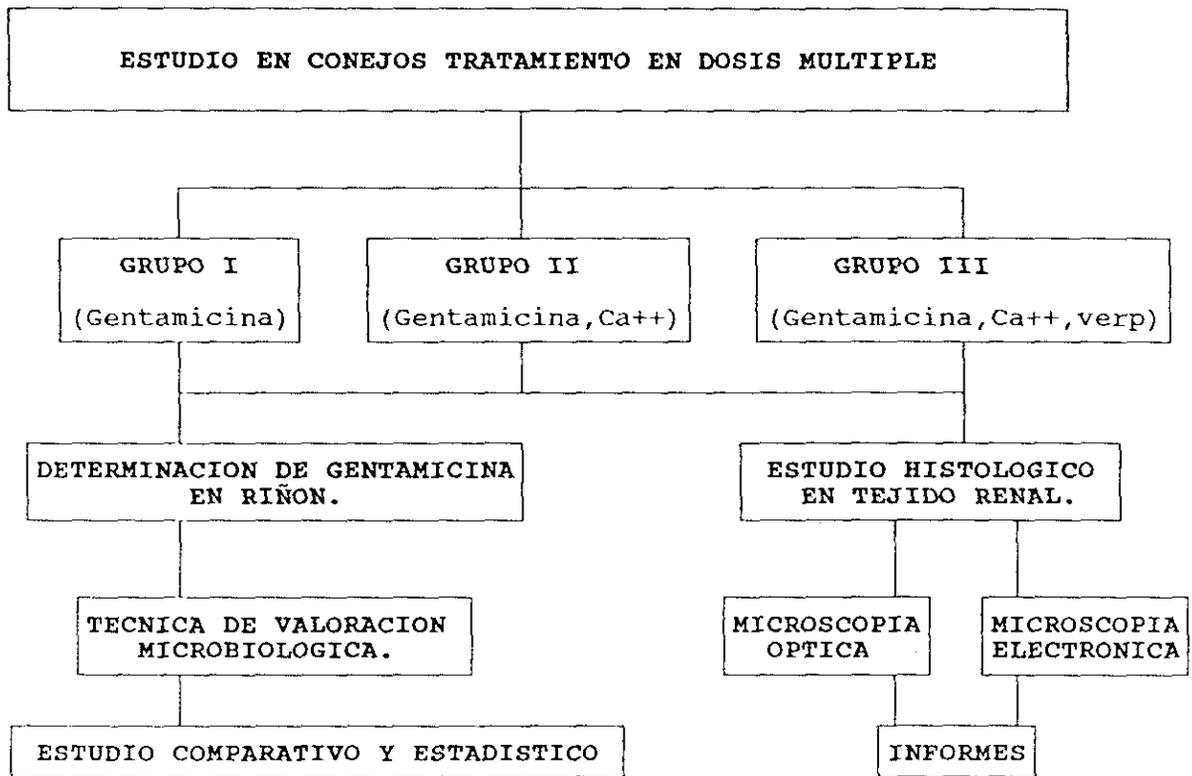


OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO

ESQUEMA II.



ESQUEMA III.



M A T E R I A L Y M E T O D O L O G I A

1.- TECNICA ANALITICA.

METODO MICROBIOLÓGICO.

Está basado en la comparación de la respuesta producida por un microorganismo susceptible a una concentración desconocida de antibiótico, con la respuesta del mismo microorganismo, bajo idénticas condiciones, a una concentración conocida de antibiótico.

Dentro de las técnicas microbiológicas existentes, hemos escogido la técnica en placa por difusión en gelosa sólida, utilizando como microorganismo indicador el *Bacillus Subtilis* ATCC 6633.(86).

1.1- DESCRIPCION DEL MATERIAL Y METODO DE TRABAJO.

1.1.1.- Preparacion de los reactivos.

MATERIAL Y METODOLOGIA

Medio antibiótico número 5:

Composición por litro:

.- Bacto.beef Extract	1.5 g
.- Bacto.yeast Extract	3.0 g
.- Bacto.pectonne	6.0
.- Bacto.agar	15.0 g

Medio antibiótico número 1:

Composición por litro:

.- Bacto.beef Extract	1.5 g
.- Bacto.yeast Extract	3.0 g
.- Bacto.casitonne	4.0 g
.- Bacto.pectonne	6.0 g

- .- Bacto.dextrose 1.0 g
- .- Bacto.agar 15.0 g

Para la preparación del medio se pesan 25.5 g y 30 g de medio nº 5 y nº 1 respectivamente. Se disuelven en 1000 ml de agua destilada y se calientan a ebullición con el fin de disolver el medio totalmente. Se reparten en los tubos correspondientes de medio conteniendo cada uno 10 ml, se tapa con algodón graso y se esteriliza en autoclave durante 30 minutos a 1 atmósfera de presión y 121° C de temperatura. (87).

1.1.2.- Preparación del Bacillus Subtilis ATCC 6633.

La cepa del microorganismo utilizada en los distintos ensayos, se conserva mediante pases sucesivos. Se prepara la suspensión bacteriana a partir de los cultivos de gérmenes según el siguiente método:

a. Preparación del sland.

Se preparan en primer lugar tubos inclinados con 10 ml del medio antibiótico numero 1. Se realiza el pase mediante

MATERIAL Y METODOLOGIA

siembra en estria y se incuba el sland durante 24 horas a 35-37 C°.

b. Preparación del Roux.

Se prepara el Roux con 250 ml del medio antibiótico número 1 incorporando 0.03 % de SO₄ Mn, se esteriliza y una vez solidificado el medio se suspende uno de los slands en 3 ml de solución salina estéril, sembrándose en el Roux con ayuda de unas bolas de vidrio igualmente estériles. Se incuba a continuación durante 48 horas a una temperatura de 32-35 °C.

Transcurrido este tiempo, el conjunto se mantiene durante 120 horas a temperatura ambiente. A continuación se realiza su lavado con 25 ml de agua destilada estéril. La suspensión se tindaliza a una temperatura de 65-70° C en baño termostatzado durante 30 minutos. Este proceso se realiza tres veces consecutivas.

Una vez terminado el proceso, la suspensión así obtenida puede conservarse en nevera durante un año.

c. Normalización de la Suspensión.

Consiste en determinar el factor de dilución para que la lectura colorimétrica a 580 nm. presente una transmitancia del 25 %.

1.1.3.-Desarrollo del método

Los tubos del medio sólido se calientan en un baño a ebullición con el fin de fundir dicho medio manteniéndose posteriormente en baño termostatzado a una temperatura de 44-46 grados centígrados.

Una vez que el medio alcanza dicha temperatura, se le incorpora a cada tubo 0.1 ml de la suspensión del microorganismo ya normalizado.

Todo el proceso se realiza a pié de mechero, o bien en campana de flujo laminar con pipeta estéril, para evitar la contaminación. A continuación se somete a agitación con el fin de conseguir la distribución homogénea en todo el medio de cultivo.

El contenido de cada tubo se vierte en placas petri estériles de 10 cm de diámetro. Mediante un ligero movimiento rotatorio se extiende uniformemente el medio por toda la placa

MATERIAL Y METODOLOGIA

y se deja solidificar.

a. Preparación de las soluciones patrón y las muestras.

Para poder determinar la concentración de antibiótico existente en las distintas muestras problema, se prepararon los patrones correspondientes con concentraciones conocidas de antibióticos.

El margen de concentraciones fue de 6 a 0.3 mcg. Se escogieron estos márgenes ya que para concentraciones inferiores, el método no era lo suficientemente sensible.

La dilución de las muestras de plasma problema y la preparación de las soluciones que constituyen los patrones correspondientes se realizaron siempre con suero bovino. En todos los casos se controló el tiempo de contacto de la muestra o del antibiótico patrón con el plasma, puesto que con anterioridad se comprobó que la difusión del antibiótico varía en función de que este periodo de tiempo sea más o menos largo. Teniendo en cuenta este hecho, utilizamos para todas las muestras de plasma y patrones correspondientes un tiempo de contacto de 30 minutos.

b. Inoculación de los discos en placas petri.

Tanto las soluciones patrón como las muestras problema de plasma se inoculan en discos de papel de celulosa de 6 mm. Las determinaciones se hacen por triplicado y el volumen de muestra utilizado es en todos los casos de 20 mcl.

Una vez impregnados los discos en solución patrón, o muestra problema, se distribuyen en placas de petri. En cada placa se colocan 4 discos de muestra, problema o patrón, indistintamente, con el fin de asegurar la máxima homogeneidad. Posteriormente se introducen en estufa de cultivo a 34° C durante 16-18 horas.

Transcurrido el periodo de incubación se observa un crecimiento homogéneo del microorganismo en toda la placa y se aprecia un halo de inhibición correspondiente a la zona hasta donde ha difundido el antibiótico.(88-89).

Una vez medidos los halos de inhibición se hallan los valores medios correspondientes a las tres determinaciones.

Se realizó siempre una curva de calibración para cada serie de muestras problema valoradas en el día. Posteriormente

MATERIAL Y METODOLOGIA

se representan los diámetros medios de los halos de inhibición en escala lineal frente a las concentraciones de las soluciones patrón en escala logarítmica. A partir de la ecuación resultante y de los halos de inhibición obtenidos se determinan las concentraciones de las muestras problema valoradas. (90-91).

2.- MATERIAL UTILIZADO

- .- Baño termostatzado Heron.
- .- Estufa de cultivo T.D.
- .- Estufa de esterilización Salvis.
- .- Autoclave Hirayama M : F.G. corp. Mod. H.A. 3 D.
- .- Campana Flujo Laminar Miniflowal. Macorra S.
- .- pHmetro Crison micro T.T. 2022.
- .- Balanza de Precisión Sauter.
- .- Balanza Monoplato Oerling.
- .- Micropipetas automáticas de 20 mcl, 1 mcl,
- .- Placas Petri desechables de 10 cm.
- .- Discos de celulosa Schleicher de 6 cm.
- .- Agitador.
- .- Centrífuga Wifug x 1.
- .- Analizador automatico Polimak M-10.
- .- Homogenizador Potter-Elvehjem.
- .- Hemodializador
- .- Filtro A.M - 160
- .- Filtro A.M - 720
- .- Filtral
- .- Congelador Zanussi
- .- Material de vidrio.

3.- REACTIVOS EMPLEADOS

- .- Antibiótico medio 1. Difco
- .- Antibiótico medio 5 .Difco
- .- Hidróxido sódico . Panreac
- .- Fosfato disódico. Panreac
- .- Fosfato monopotásico
- .- Cloruro sódico. Panreac
- .- Acido tricloroacético. Probus
- .- Reactivo Boehringer nº 204382
- .- Reactivo Boehringer nº 124192
- .- Reactivo Boehringer nº 524310
- .- Reactivo Boehringer nº 556726
- .- Precinorm U Boehringer nº 204382

4.- DISEÑO EXPERIMENTAL.

**4.1.-PROCOLO EXPERIMENTAL EN PACIENTES INSUFICIENTES
RENALES SOMETIDOS A HEMODIALISIS.**

4.1.1.- Proceso de Hemodiálisis : Descripción

La hemodiálisis constituye una de las técnicas de depuración extracorpórea de sangre de mayor utilización en la actualidad.

Consiste fundamentalmente en un intercambio a través de una membrana semipermeable, entre la sangre del enfermo y una solución de composición electrolítica similar a la del plasma normal. Permite la depuración de las sustancias de desecho y la normalización de los electrolitos plasmáticos.

La hemodiálisis periódica se destina, en principio, a todos los pacientes portadores de una insuficiencia renal

MATERIAL Y METODOLOGIA

crónica que ha alcanzado su estadio último, quedando definido por un descenso de la filtración glomerular residual por debajo de 5 ml/min, lo que corresponde a una disminución del número de nefronas restantes a menos del 5 % de su cifra inicial.

La filtración se puede calcular, en el estadio evolucionado de la insuficiencia renal, por la medida del aclaramiento de urea y creatinina en la orina de 24 horas. En la práctica este estadio corresponde a una creatinina de 13 a 15 mg/100 ml.

Actualmente, no existe ningún tipo de criterio basado en la naturaleza de la nefropatía, la edad, el sexo o las condiciones socioeconómicas, que impida aplicar este tratamiento.

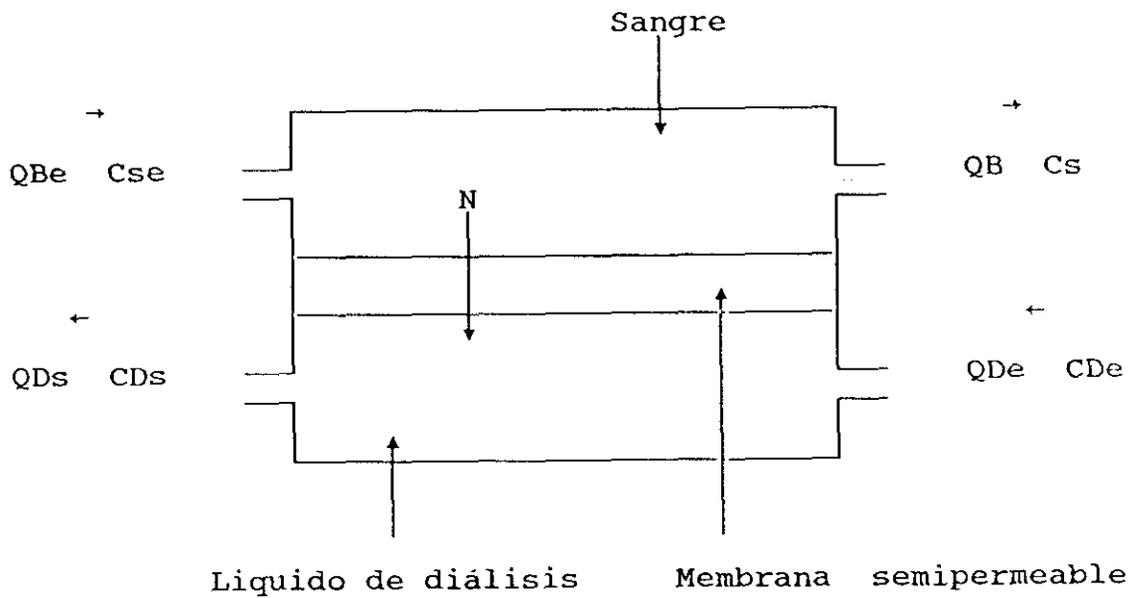
No obstante subsisten contraindicaciones de tipo médico, limitadas por el propio método, entre las que se podría citar : una avanzada edad fisiológica, una alteración irreversible del estado general, perturbaciones psíquicas severas, insuficiencia coronaria marcada, neoplasia...

La hemodiálisis periódica tiene por objeto suplir las funciones de excreción y regulación hidroeléctrica de los

riñones destruidos. Alcanza este objetivo realizando un intercambio discontinuo de solutos y agua, a través de una membrana semipermeable, entre el plasma del paciente y una solución de diálisis de composición muy próxima a la de un líquido extracelular normal. La existencia de un gradiente de presión hidrostática entre la sangre del enfermo y el baño de diálisis permite, además, la sustracción por ultrafiltración de la cantidad de agua y sales acumulada en el intervalo entre dos diálisis.(92).

El dispositivo que permite el intercambio entre la sangre y el baño de diálisis es el dializador. Se compone, esquemáticamente, de una membrana semipermeable que separa dos compartimentos en los cuales circulan, respectivamente, la sangre del paciente y el líquido de diálisis. El baño de diálisis es una solución acuosa no estéril con una composición electrolítica similar a la de un líquido extracelular normal. Está desprovisto de aquellos solutos cuya eliminación se desea (urea, creatinina y otros desechos del metabolismo nitrogenado).

MATERIAL Y METODOLOGIA



Los símbolos Q_B y Q_D designan los flujos de sangre y de baño de diálisis; C_S y C_D las concentraciones correspondientes; y los índices e y s la entrada y salida del dializador.

La cantidad de solutos transferida se calcula según las leyes de transferencia de masas a través de las membranas semipermeables.(92). La transferencia de masa de un soluto se

define como la cantidad de dicho soluto que pasa de la sangre al baño de diálisis o viceversa, por unidad de tiempo. El sentido de intercambio viene determinado por las concentraciones respectivas de los solutos y por las condiciones de presión reinantes a uno y otro lado de la membrana.

La cantidad de soluto extraída de la sangre en un tiempo dado, N , puede expresarse como la diferencia entre la cantidad de soluto que entra en el dializador ($C_{Se} * Q_{Be}$), y la hallada a la salida, ($C_{Ss} * Q_{Bs}$). (93).

$$N = (C_{Se} * Q_{Be}) - (C_{Ss} * Q_{Bs})$$

Esta cantidad es igual a la que aparece en el baño de diálisis en el mismo momento :

$$N = (Q_{Ds} * C_{Ds}) - (Q_{De} * C_{De})$$

La transferencia de masa a través de la membrana

MATERIAL Y METODOLOGIA

semipermeable se realiza por un mecanismo de ultrafiltración o convección, NUF y depende de tres factores (94):

$$NUF = T * C_s * Q_f$$

T : Coeficiente de filtración de la membrana para el soluto considerado. Se define como la relación entre la concentración del soluto en el ultrafiltrado y su concentración en el mismo momento en el plasma, UF/P.

C_s : Concentración media del soluto en el plasma

Q_f : Caudal de filtración del disolvente o caudal de ultrafiltración; depende de la superficie eficaz y de la permeabilidad hidráulica de la membrana, así como de la presión hidrostática transmembrana.

Los rendimientos de un dializador tanto en lo que se refiere a la extracción de los solutos como a la pérdida de agua por ultrafiltración, deben ser mesurables a fin de permitir la previsión de los mismos y la comparación entre los diversos dializadores.(95).

La transferencia de masa para un soluto dado puede expresarse por el aclaramiento o bien por la dializancia del dializador para dicho soluto. El aclaramiento de un dializador Cl es la relación entre la transferencia de masa para el soluto considerado, N , y su concentración en sangre a la entrada del dializador, C_{Se} .

$$Cl = N / C_{Se} = QB [(C_{Se} - C_{Ss}) / C_{Se}]$$

La dializancia, D , de un dializador es la relación entre la transferencia de masa para el soluto considerado y el gradiente de concentración de dicho soluto, entre la sangre y el baño de diálisis a la entrada del dializador, $C_{Se} - C_{De}$:

$$D = N / (C_{Se} - C_{De}) = QB [(C_{Se} - C_{Ss}) / (C_{Se} - C_{De})]$$

En el caso de un baño de diálisis de paso único C_{De} es nulo y la dializancia es igual al aclaramiento por lo que ambos pueden utilizarse indistintamente en este caso. En cambio solo debe emplearse la dializancia en el caso de dializadores de bobina con recirculación del líquido de diálisis y en sistemas

MATERIAL Y METODOLOGIA

que utilizan un baño de diálisis en circuito cerrado.

Un dializador está formado por una membrana de diálisis y estructuras de sostén. Las diferentes variedades de dializadores existentes en la actualidad se pueden reducir a tres tipos principales :

.- **Dializadores de bobina** : están constituidos por una o dos vainas de cuprofán, enrolladas transversalmente alrededor de un soporte cilíndrico y sostenidas por un enrejado semirígido que opone una gran resistencia a la progresión de la sangre y del baño de diálisis. La circulación del baño exige un caudal elevado, del orden de 20 a 30 l/min. (96). La pérdida de carga del circuito sanguíneo es muy importante ya que impone el empleo de una bomba de sangre oclusiva y provoca una ultrafiltración obligatoria. (97). Estos dializadores presentan la ventaja de un rendimiento elevado y de un empleo sencillo. Sus inconvenientes son la frecuencia de rotura de la membrana debido a las fuertes presiones necesarias para vencer la resistencia del circuito y la dificultad de control de ultracentrifugación. (98).

.- **Dializadores de placa** : están constituidos por un número variable de compartimentos paralelos y rectangulares, separados por estructuras de sostén rígidas que les aseguran una baja distensibilidad. Ofrecen solo una débil resistencia

a la progresión de la sangre. Su contenido en sangre es más bajo que el de los dializadores de bobina y el caudal de ultrafiltración es previsible y fácilmente regulable.(99).

.- Dializadores de fibra hueca : están constituidos por la yuxtaposición de 10.000 a 15.000 fibras huecas o capilares, con un diámetro interno aproximado de 200 micras. La membrana es de cuprofán o de acetato de celulosa. Su distensibilidad es muy baja. Esta estructura geométrica es teóricamente óptima ya que el contenido de sangre, inferior a 150 ml y el espesor de la película sanguínea, inferior a 100 micras para una superficie de diálisis del orden de 1 m², son los más bajos de todos los dializadores. La resistencia a la progresión de la sangre es baja y la ultrafiltración fácilmente controlable. Su principal inconveniente reside en la imprevisible aparición de coagulaciones en la fibras capilares, que reducen la eficacia de la diálisis y dificultan la recuperación de la sangre.(100-101).

Es por tanto que, en última instancia, la elección del tipo de dializador dependerá de su capacidad para la depuración de moléculas pequeñas como urea y creatinina y de las más grandes como la vitamina B12, de las características de ultrafiltración de la máquina, del volumen requerido, así como de las exigencias propias del paciente.

MATERIAL Y METODOLOGIA

La tabla XII. resume las características del funcionamiento de los dializadores utilizados durante el ensayo.

DIALIZADOR	COMPOSICION	COEF. ULTRAF (ml/h/min)	CAPACIDAD (ml)
A.M.160	Cuprofano	6.7	78
A.M.720	Cuprofano	5.3	75
A.M.69	Cuprofano	3.1	91

Tabla XII. Dializadores utilizados en el ensayo.

El acceso a la circulación sanguínea se realiza a través de una fístula arteriovenosa simple. Para crear este dispositivo se procede a la anastomosis de la arteria radial y de una vena superficial adyacente.

En la figura XVIII. reproducimos un esquema de un módulo de hemodiálisis similar al utilizado en los pacientes objeto de este estudio. (102).

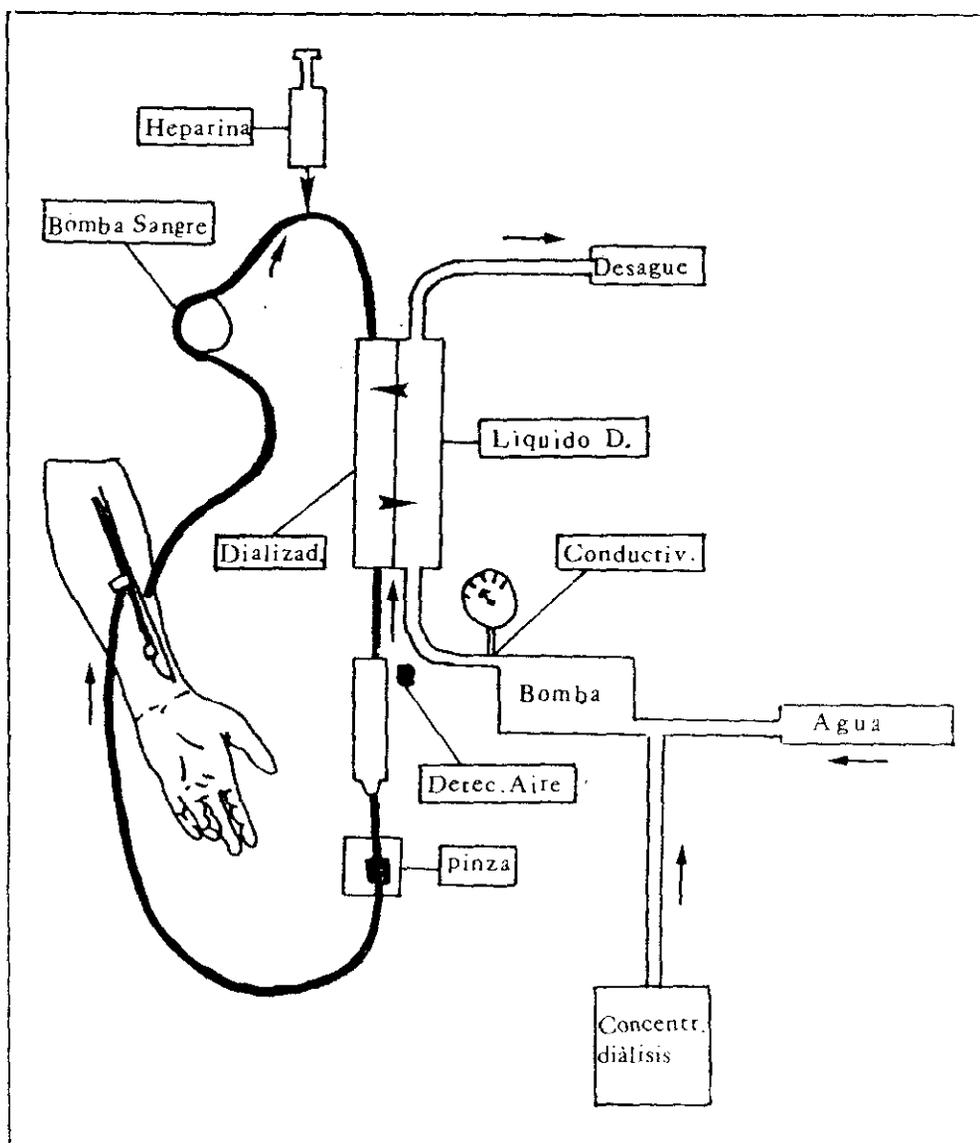


Fig. XVIII. Esquema de un módulo de hemodiálisis.

MATERIAL Y METODOLOGIA

El proceso comienza en el momento en el que el enfermo es conectado al hemodializador mediante el acceso vascular anteriormente citado.

La técnica consiste en bombear la sangre heparinizada del paciente a través del compartimento sanguíneo de la máquina, línea arterial (A), a una velocidad de 200-300 ml/min. La anticoagulación se logra mediante la infusión continua de heparina en la línea sanguínea.

El líquido de la diálisis, que pasa por el compartimento de dializado o filtro, es preparado a partir de un concentrado comercial de líquidos o de sales secas tratadas con agua.

La composición de la solución concentrada para hemodiálisis es la siguiente:

- .- Sodio : 138 m. Eq/l
- .- Potasio : 1.5 m. Eq/l
- .- Magnesio : 1.5 m. Eq/l
- .- Calcio : 3.5 m. Eq/l
- .- Acetato : 35 m. Eq/l
- .- Glucosa : 1 g/l

El sistema de mezclado de este líquido requiere de la ayuda de una bomba (2) que suministre el agua y las sales en la proporción de 34:1.

La continua vigilancia de la conductividad eléctrica del dializado permite mantener la concentración iónica.

El líquido de hemodiálisis (agua cargada de toxinas urémicas y solutos de bajo peso molecular), es arrastrado a un canal de desecho. El flujo con el que este líquido dializado sale de la máquina es aproximadamente de 566 ml/min.

Una vez que se ha producido el intercambio osmótico entre la sangre y el líquido de reposición, la sangre dializada retorna con la ayuda de una bomba al individuo por la línea venosa (V).

Existen además monitores especiales que impiden la formación de altas presiones negativas que podrían romper la membrana dializante. Estos sistemas también vigilan la presencia de sangre en el líquido de diálisis, lo que indicaría una rotura del dializador. Un detector de aire vigila la línea de sangre venosa para prevenir la embolia gaseosa. Asimismo las presiones sanguíneas del paciente al dializador y del dializador al paciente son vigiladas

MATERIAL Y METODOLOGIA

constantemente para detectar cualquier cambio súbito indicador de obstrucción. (103-104).

4.1.2.- Características de los pacientes sometidos a ensayo.

El estudio fue llevado a cabo en pacientes adultos de ambos sexos insuficientes renales terminales, con un aclaramiento de creatinina inferior a 5 ml/min, y de edades comprendidas entre 20 y 50 años. La tabla (XIII), recoge los datos mas significativos de dichos pacientes. Asimismo se establecieron dos grupos:

*-GRUPO I.

6 pacientes (2 mujeres y 4 varones), con insuficiencia renal terminal.

*-GRUPO II.

6 pacientes (4 mujeres y 2 varones), con insuficiencia

renal terminal y Diabetes Mellitus tipo I.

4.1.3.- Toma de muestra.

La dosis de gentamicina inyectada fue en todos los casos de 80 mg, de acuerdo con el protocolo habitual de prescripción de este antibiótico establecido por el servicio. La administración se realiza, en todos los casos en la línea venosa instantes antes de poner en funcionamiento el hemodializador. (Figura XVIII). Se recogieron muestras de sangre de la línea arterial, a los siguientes tiempos: 10', 20', 30', 50', 80', 3 h. y 5 h. Coincidiendo esta última recogida de muestra en casi todos los casos, con el final del proceso.

MATERIAL Y METODOLOGIA

IND.	Nº	SEXO	PESO	HEMATOCRITO	FILTRO
C.M.M.	1	H	54	31.2	A.M.720
R.C.O.	2	H	60	36.6	A.M.720
D.F.H.	3	H	52	27.1	A.M.720
J.G.G	4	H	71	24.7	A.M.720
F.A.	5	V	57	30	A.M.720
J.M	6	V	50	38.2	A.M.720
F.F.C.	7	V	76	27	A.M.160
B.R.S.	8	V	64	22.8	A.M.160
S.M.Ch	9	H	51	23	A.M.160
V.R.R.	10	V	58	46	A.M.160
P.R.	11	H	46	32	A.M.720
A.R.	12	V	59	37	A.M.720

Tabla XIII. Características de los individuos de hemodiálisis.

Los tiempos de recogida de muestra fueron, en algunos casos, ligeramente modificados debido a problemas de índole clínico.

4.1.4.- Preparación y análisis de las muestras

Las muestras de sangre procedentes de los individuos sometidos a hemodiálisis se mantuvieron en nevera durante el tiempo de duración del ensayo. Posteriormente fueron centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 10 minutos. A continuación se separó el plasma y se congelaron a -30° C, hasta el momento de su valoración.

**4.2- PROTOCOLO EXPERIMENTAL EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACION**

**4.2.1.- Características de los animales objeto del
estudio**

El estudio se realiza sobre 36 conejos machos blancos Neozelandeses, con pesos comprendidos entre 2 y 2,5 Kg, y libre acceso al agua y comida durante todo el tratamiento.

Los animales no presentaron ninguna enfermedad de base

MATERIAL Y METODOLOGIA

que pudiera en alguna medida condicionar el estudio.

Se establecieron tres situaciones de ensayo:

*-GRUPO I.

12 conejos a los que se les administró gentamicina por vía endovenosa durante 16 días de tratamiento.

*-GRUPO II.

12 conejos a los que se les administró gentamicina por vía endovenosa y cloruro cálcico dihidratado, al 1 % en solución acuosa, por vía oral (mediante sonda gástrica), durante 16 días de tratamiento.

*-GRUPO III.

12 conejos a los que se les administró gentamicina por vía endovenosa y cloruro cálcico dihidratado, al 1 % en solución acuosa, por vía oral, (mediante sonda gástrica), y verapamil , por vía endovenosa durante 16 días de

tratamiento.

**4.2.2.- Determinación de la superficie corporal.
Cálculo de la dosis.**

a. Gentamicina

La pauta posológica en animales de experimentación se estableció a partir de las dosis terapéuticas en humanos extrapoladas en función de la superficie corporal.

Freireich et al (1966) (105), establecen los índices representativos de superficie corporal respecto al peso para varias especies animales, no obstante, en dicho trabajo no están incluidos los datos correspondientes al conejo.

La superficie corporal del conejo se calculó a partir de la expresión : (106)

$$S = K * \sqrt{p^2}$$

MATERIAL Y METODOLOGIA

donde S : superficie corporal (cm^2); K : constante propia de cada especie animal, que para el conejo es 12.86 (106); P : peso (g).

De esta forma la superficie corporal del conejo resulta ser 0.2044 m^2 , para un peso establecido de 2 Kg.

Una vez calculada la superficie corporal hemos podido completar los datos publicados por Freireich et al (105).

ESPECIES :	PESO	SUPERFICIE	COCIENTE
	CORPORAL (Kg)	CORPORAL (m ²)	SUPERF. PESO (Km)
RATON	0.02	0.0066	3
RATA	0.15	0.025	5.9
<u>CONEJO</u>	2	0.204	9.8
MONO	3	0.24	12
PERRO	8	0.40	20
NIÑO	20	0.80	25
HOMBRE			
ADULTO	60	1.6	37

Tabla. XIV. Indices representativos de superficie corporal respecto al peso para varias especies.

Para expresar una dosis conocida en mg /Kg en mg /m² en una especie dada, se multiplica la dosis por el Km correspondiente.

De igual forma hemos completado la tabla de factores de conversión para dosificación equivalente según la superficie corporal. Esta tabla proporciona los factores de conversión

MATERIAL Y METODOLOGIA

aproximados para transformar dosis expresadas en mg /Kg en una especie a una dosis por " superficie corporal equivalente " expresada igualmente en mg /Kg en las otras especies.

	RATON (20g)	RATA (150g)	<u>CONEJO</u> (2Kg)	MONO (3Kg)	PERRO (8Kg)	HOMBRE (60Kg)
DE :						
RATON	1	1/2	1/3	1/4	1/6	1/12
RATA	2	1	3/5	1/2	1/4	1/7
CONEJO	3	5/3	1	5/6	1/2	1/4
MONO	4	2	6/5	1	3/2	1/3
PERRO	6	4	2	5/3	1	1/2
<u>HOMBRE</u>	12	7	4	3	2	1

Tabla. XV. Factores de conversión para dosificación equivalente según superficie corporal.

La prescripción usual límite para adultos es de hasta 8 mg por Kg de peso corporal / día, en infecciones severas que pongan en riesgo la vida del paciente, teniendo en cuenta que dosis diarias superiores a 3.5 mg / kg de peso corporal se deben reducir tan pronto como sea clínicamente posible. (107).

Por tanto, una dosis de 8 mg / Kg / día en humanos dará lugar a una dosis extrapolada en conejos, asumiendo la equivalencia basada en mg / m² de :

$$8 \text{ mg / kg} * 4 = 32 \text{ mg / Kg}$$

Que para un peso de 2 Kg proporciona una dosis día de 64 mg. Se eligió un intervalo de dosificación de 8 horas por lo que la pauta posológica en conejos quedó establecida en 20 mg / 8 horas administrado por vía endovenosa, susceptible de modificación en función de las variaciones de peso.

b. Verapamil

La extrapolación de la dosis en humanos a animales de experimentación se realizó de igual forma que para la gentamicina.

Se estableció como dosis de referencia en humanos 0.150 mg /kg / día , (107) , lo que da lugar a una dosis de 1.20 mg / día, de verapamil en conejos (0.40 mg / 8 horas).

MATERIAL Y METODOLOGIA

c. Cloruro Calcico

La dosis de cloruro cálcico dihidratado se estableció en 1 g / día, repartido en dos tomas, administrado en todos los casos mediante sonda gástrica.

4.2.3. Toma de muestras

Antes de comenzar el ensayo en los tres grupos anteriormente citados, se realizaron las determinaciones plasmáticas de creatinina y calcio. Asimismo y con el fin de comparar la evolución de dichos parámetros, se repitieron estas determinaciones a los 3, 5, 9, 11 y 16 días de tratamiento.

Las muestras de sangre fueron recogidas de la vena marginal de la oreja, cada 8 horas, antes de la administración de la siguiente dosis de medicamento . La toma de muestra correspondiente a las 24 horas, no se llevo a cabo, aunque si se respetó la administración del medicamento.

Tras la administración de la última dosis, se realiza una toma de muestra adicional a las 2 h., 4 h. y 6 h.,

tiempo en el que finalizó el ensayo.

Posteriormente se procedió al sacrificio del animal mediante inhalación de CO₂ durante unos segundos.

Se practicó una incisión media abdominal con el fin de localizar los dos riñones, para su posterior estudio histopatológico así como para la cuantificación de gentamicina en el citado órgano.

4.2.4.- Preparación y análisis de las muestras

Muestras de sangre

Una vez realizadas las extracciones a los tiempos preestablecidos se opera de igual forma que en el apartado 4.1.4.

MATERIAL Y METODOLOGIA

Determinaciones bioquímicas

Se realizaron en un analizador automático Polimak M-10, sobre las muestras de plasma. Los parámetros bioquímicos estudiados fueron los siguientes:

a.- Calcio : Se determinó por el método de o-cresolftaleina-complexona de acuerdo con el método de Ray-Sarkar (108).

b.- Creatinina : Se determinó por el método de Jaffe (109).(110).

En todas las determinaciones se utilizó como patrón un suero valorado, Precinorm U.

Muestras de riñón para cuantificación de gentamicina.

Para la determinación de la gentamicina en tejido se siguió la técnica de Kornguth y colaboradores (111). Una vez extraído el órgano se separaron dos muestras y se pesó un gramo de cada una de ellas. Los tejidos fueron homogeneizados en 10 y 5 volúmenes de tampón fosfatos (Sorensen) de pH 7.4

, 0.1 M, respectivamente y posteriormente filtrados.

Con objeto de determinar la cantidad de aminoglucósido fijado a estructura renal, se prepararon soluciones patrones con muestras de corteza renal procedentes de animales sanos mantenidos en idénticas condiciones de alimentación y estabulación que los conejos que estuvieron bajo tratamiento. El tratamiento de dichas muestras fue exactamente igual que el anteriormente citado para las muestras problema.

Tanto las soluciones patrón como las muestras fueron diluidas con tampón fosfato (Sorensen) de pH 7.4, 0.1 M, en una serie decreciente de concentraciones de 5 a 1 mcg / ml.

Posteriormente las muestras problema y los patrones se valoraron por el método microbiológico de difusión en gelosa sólida ya descrito.(112).

Muestras de riñón para el estudio histopatológico.

Con el fin de detectar las posibles lesiones producidas por el aminoglucósido en el tejido renal, se procedió a su estudio histológico. Para ello y previamente, las muestras fueron lavadas con solución salina al 9 % , y tras un corte

MATERIAL Y METODOLOGIA

longitudinal divididas en dos mitades.

a. Microscopía Óptica.

Para evitar la rápida degeneración que sufren los tejidos, se cortaron pequeñas porciones representativas de tejido cortical y se sumergieron en el agente fijador. Como solución fijadora se utilizó formalina al 10 %, manteniendo las muestras durante 24-48 horas. (113,114).

Transcurrido este tiempo, los tejidos fueron lavados y deshidratados, haciendolos pasar por soluciones crecientes de alcohol y posteriormente aclarados en xilol.

Una vez preparados los tejidos se incluyeron en parafina procediendose a realizar los cortes de aproximadamente 5 micras, con la ayuda del microtomo.

Como colorantes para la tinción se empleó una combinación de Hematoxilina y Eosina, así como la tinción de Schiff con ácido peryódico (PAS). (115).

b.- Microscopía electrónica.

El método utilizado en la preparación de los cortes para microscopía electrónica fue muy semejante al anteriormente descrito, sin embargo hay que destacar algunas diferencias. Así, los fragmentos de tejido utilizados fueron mucho más pequeños, siendo el procedimiento de fijación, deshidratación e inclusión mucho más rápido.

Como agente fijador se utilizó glutaraldehído al 3 % (116). Asimismo la parafina fue sustituida por un material plástico (Epon).

Los cortes con espesor entre 300 y 500 A, se realizaron con un microtomo especial de precisión. La tinción se efectuó con acetato de uranilo.

5.- ANALISIS FARMACOCINETICO

En la actualidad y gracias al desarrollo de las teorías modernas de cálculo y programación informática, se emplean en farmacocinética casi de forma "rutinaria", varios programas para ordenadores, en la estimación no lineal por mínimos cuadrados de parámetros farmacocinéticos.

En los últimos años se han publicado numerosos tipos de programas de cálculo, (117-122), cuya finalidad es resolver el problema de estimación de dichos parámetros.

En nuestro caso se ha escogido un paquete de programas denominado " ADAPT", desarrollado por el Profesor R.W. Jelliffe en el " Laboratory of Applied Pharmacokinetics ", " University of Southern California ".

Se describen a continuación tanto su fundamento como su utilización de una forma resumida.

La evolución cinética de un medicamento en un ser vivo superior puede expresarse mediante las siguientes ecuaciones:

$$x = f (x, \alpha, r, t); \quad x(0) = g (a) \quad \text{Ec. 1a}$$

$$y = h (x, \alpha, r, t) \quad \text{Ec. 1b}$$

Donde "x" es el vector de estado, n-dimensional; "α" es el vector de los parámetros, invariable con el tiempo y p-dimensional; "r" es el vector de entrada, k-dimensional; "y" es el vector de salida del sistema, l-dimensional y "t" es la variable independiente, tiempo. Se consideran entradas del sistema las dosis administradas, las vías de administración utilizadas y los intervalos posológicos, si los hubiera. Por salidas del sistema se entienden los valores de la concentración y/o cantidad de medicamento, calculados a los tiempos de muestreo de las observaciones. En general, el vector que determina la condición inicial "x (0)", puede ser función del vector desconocido de los parámetros, "α". Se asume que las entradas tipo "bolus" cambian de estado instantáneamente y son simuladas mediante condiciones de salto de la forma siguiente:

MATERIAL Y METODOLOGIA

$$x(\tau_i^+) = x(\tau_i^-) + E \cdot b(\tau_i) ; i = 1, 2, \dots, ND \quad \text{Ec. 2}$$

Los tiempos de administración de dosis corresponden a " τ " mientras que los tiempos inmediatamente anterior y posterior se representan con los signos (-) y (+) respectivamente. "ND", es el número de dosis; "b" es el vector q-dimensional, de las entradas tipo "bolus" y "E", la matriz de conexión, "n * q", que identifica los estados que han de recibir una entrada de "bolus".

Cuando las soluciones se expresan de forma cerrada, es decir, mediante las ecuaciones integradas, el modelo se define solamente, mediante la ecuación 1b, representando "r" todas las entradas.

Los datos de la variable o variables utilizadas en el ajuste del modelo se obtienen a tiempos discretos, que están sujetos a error de observación. Estas medidas se representan por un vector "Z", l-dimensional:

$$Z(t_j) = y(t_j, \alpha) + n(t_j); j = 1, 2, \dots, m \quad \text{Ec. 3}$$

Donde " t_j " representa los tiempos de muestreo y " n " es el vector, 1-dimensional, de ruido. Tanto para la administración como para las observaciones se utiliza una escala absoluta de tiempos, en el que el cero representa el comienzo del ensayo.

En general la estimación de parámetros consiste en encontrar un valor para el vector de parámetro " α ", que proporcione el mejor ajuste entre las salidas del modelo y los datos medidos. Aunque pueden utilizarse diversos criterios para obtener los valores estimados de los parámetros, en los programas "ADAPT", se emplea el método de los mínimos cuadrados ponderados. De esta forma, el problema consiste, específicamente, en encontrar el vector de parámetros, " α ", que minimice la siguiente expresión:

$$J(\alpha) = \sum_{i=1}^l G_i \sum_{j=1}^m W_{ij} [y_i(t_j, \alpha) - z_i(t_j)]^2$$

Ec. 4

Donde " y_i " y " z_i " son los i -ésimos elementos de los vectores de salida del modelo y de observación, respectivamente. El término " G_i " es el peso asignado en la i -ésima salida, mientras que " W_{ij} " es el peso de cada observación.

MATERIAL Y METODOLOGIA ---

La búsqueda de los valores estimados de los parámetros incluye los siguientes aspectos:

1.- Integración de las ecuaciones diferenciales del modelo.

2.- Minimización de la función representada por la ecuación 4.

3.- Análisis del error asociado con las estimaciones de los parámetros y las subsiguientes predicciones del modelo.

Por lo que respecta al primer apartado, para la solución de las ecuaciones diferenciales del modelo se dispone de numerosos algoritmos para resolver un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden.

Sin embargo, cuando estas ecuaciones diferenciales surgen del planteamiento de un modelo farmacocinético y han de ser resueltas como parte de un procedimiento de estimación de parámetros, se presentan algunos problemas peculiares que deben ser superados por el algoritmo de elección. En este sentido, resulta importante tener en cuenta los siguientes puntos:

a.- El algoritmo debe ser eficiente, puesto que, en general pueden existir numerosas soluciones para las ecuaciones del modelo.

b.- El algoritmo debe proporcionar resultados estables, cuando las soluciones del vector de parámetros están lejos de la trayectoria nominal.

c.- Dado que las soluciones de las ecuaciones diferenciales necesitan un número relativamente pequeño de pasos, las soluciones de salida en forma de red son de gran derroche de tiempo.

Estas tres condiciones son ampliamente satisfechas por un programa para la resolución de las ecuaciones diferenciales habituales en farmacocinética.

En general se está de acuerdo en que no existe un procedimiento no lineal de estimación de parámetros que sea el idóneo y que proporcione resultados aceptables para cualquier tipo de problema. En los estudios previos al diseño de paquetes de programas "ADAPT", se evaluó, con distintos problemas farmacocinéticos, la bondad de seis algoritmos, todos ellos de variedad de gradiente. Los algoritmos considerados fueron los siguientes:

MATERIAL Y METODOLOGIA

- 1.- Algoritmo de Newton-Raphson (123).
- 2.- Algoritmo de Gauss-Newton (124).
- 3.- Algoritmo de Marquardt (119).
- 4.- Algoritmo tipo Marquardt modificado por Brown (125).
- 5.- Algoritmo basado en el "descenso más inclinado", seguido del algoritmo de Gauss-Newton.
- 6.- Marquardt y "descenso más inclinado", de una forma paralela.
- 7.- Simplex (126).

Los mejores resultados correspondieron al empleo del algoritmo de búsqueda directa conocido como Simplex, que ya había sido empleado con anterioridad por Olsson y Nelson en 1975 (127), proporcionando muy buenos resultados en la resolución de diversos problemas de minimización de funciones. Este método es el utilizado en el paquete de programas

"ADAPT".

El problema de la estimación de los parámetros no radica solo en la determinación de los mismos sino también en conocer el error que se comete en dicha estimación. Para evaluar la varianza de los parámetros es preciso realizar una serie de suposiciones respecto al proceso de ruido, "n(t)".

En estos programas se utiliza la siguiente notación:

$$n(t) = [n_1(t), \dots, n_r(t)]^T$$

$$n_i = [n_i(t_1), \dots, n_i(t_m)]^T$$

$$n = [n_1^T, \dots, n_r^T]^T$$

La covarianza de "n_i" viene dada por:

$$\text{cov} (n_i) = M_i = \begin{pmatrix} \delta^2_{ii} & 0 \\ 0 & \delta^2_{lm} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 5}$$

La matriz de la covarianza, "m.l * m.l" del vector de ruido "n", puede representarse mediante la expresión:

$$\text{cov} (n) = R = \begin{pmatrix} M_i & 0 \\ 0 & M_i \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 6}$$

Con estas consideraciones, y segun Rosenbroch y Story (128) la matriz de covarianza del parametro estimado corresponde a:

$$\text{côv} (\alpha) = (P^T W P)^{-1} (P^T W R W P) (P^T W P)^{-1} \quad \text{Ec.7}$$

donde "P" es la matriz jacobina "m.l * p", obtenida a partir de:

$$P = \frac{\delta Y(\alpha)}{\delta \alpha}, \quad Y = [Y_1(t_1), Y_1(t_2), \dots, Y_1(t_m)]^T \quad \text{Ec.8}$$

y "W" es la matriz de ponderación compuesta, "m.l * m.l", definida por:

$$W = \begin{pmatrix} G_1 W_{11} & & 0 \\ & G_1 W_{12} & \\ 0 & & G_e W_{1m} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 9}$$

Utilizando las desviaciones estándar estimadas de los parámetros (SD_i), tal y como se calculan a partir de la covarianza, el coeficiente de varianza del i-ésimo parámetro vendrá dado por:

MATERIAL Y METODOLOGIA

$$\text{C.V.}_i (\%) = \frac{S^{\wedge}D_i}{\alpha_i} \cdot 100 \quad \text{Ec. 10}$$

La matriz de covarianza de los parámetros también resulta de utilidad para estimar la varianza de las predicciones hechas para el modelo. La varianza de la i -ésima salida a un tiempo " t_{m+1} ", dado el valor estimado del " α ", corresponde a:

$$\text{vâr}[y_i(t_{m+1}), \alpha] = [\delta h_i (t_{m+1}) / \delta \alpha] \text{côv} (\alpha) [\delta h_i (t_{m+1}) / \delta \alpha]^T$$

Ec.11

donde " h_i " es el i -ésimo elemento de la función de salida.

Además del citado análisis de errores, pueden calcularse, para cada salida, la varianza del error " S^2_i ", y el coeficiente de determinación " r^2_i ", siendo " r_i " el coeficiente de correlación simple entre los valores observados y los predichos para el modelo, mediante las siguientes expresiones:

$$S_i^2 = \frac{1}{df_i} \sum_{j=1}^m G_i W_{ij} [y_i (t_j) - z_i (t_j)]^2 \quad \text{Ec. 12}$$

$$r^2_i = \frac{\sum_{j=1}^m [y_i (t_j) - \bar{y}_i]^2 [z_i (t_j) - \bar{z}_i]^2}{\sum_{j=1}^m [y_i (t_j) - \bar{y}_i]^2 \sum_{j=1}^m [z_i (t_j) - \bar{z}_i]^2} \quad \text{Ec.13}$$

donde "df_i", son los grados de libertad para la i-ésima salida (= m_i - p) y " m_i ", es el número de observaciones no ponderadas con un peso cero, para la i-ésima salida. Los valores medios de las predicciones del modelo y de las observaciones están representadas por \bar{y}_i y \bar{z}_i , respectivamente.

La gran flexibilidad de este tipo de programas permite superar ampliamente los modelos clásicos de disposición y recurrir a modelos fisiológicos, que reproducen, con más exactitud, los procesos que experimenta un medicamento cuando se administra a un organismo.

Una vez concebido racionalmente el modelo fisiológico adecuado para cada caso, se procede a construir con "ADAPT" dos programas distintos, denominados "ID" y "SIM", el primero

MATERIAL Y METODOLOGIA ---

de los cuales permite la identificación de los parámetros, mientras que el segundo se utiliza para la simulación del modelo.

Las ecuaciones que rigen el modelo se suministran mediante dos subrutinas, denominadas "DIFFEQ" y "OUTPUT".

También se utilizan otras subrutinas cuyos nombres y funciones son las siguientes:

.-INOUT: Lee los datos del modelo

.-WEIGHT: Determina los pesos de las salidas y de las observaciones.

.-FUNC: Regula la resolución de las ecuaciones diferenciales y las salidas.

.-STAT: Imprime los resultados de la estimación de los parámetros.

Además de estas y otras subrutinas, existen dos programas

de apoyo: el "ODE", que resuelve las ecuaciones diferenciales y el "NELDER", que lleva a cabo la minimización de las funciones.

En las figuras XIX y XX , se encuentran recogidos los diagramas de flujo de los programas "ID" y "SIM", respectivamente.

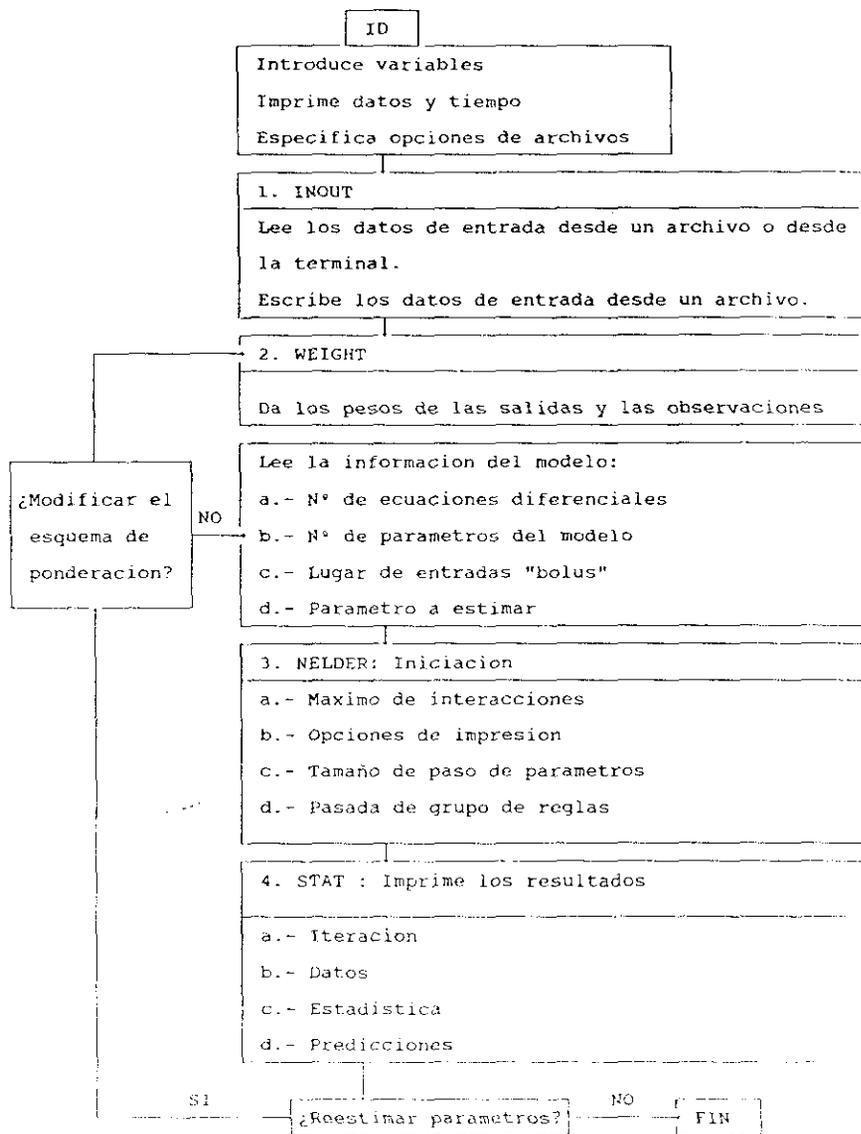


Fig. XIX. Diagrama de flujo del programa ID.

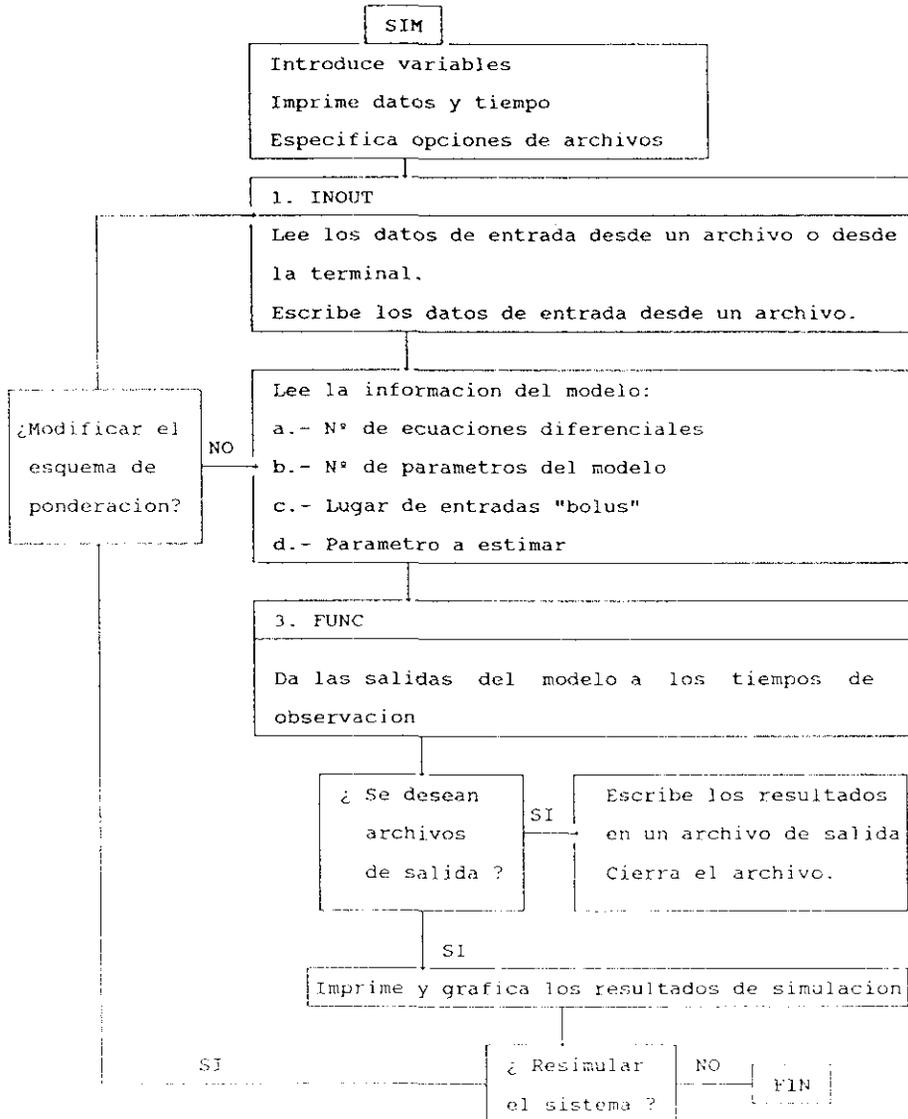


Fig. XX. Diagrama de flujo del programa SIM.

5.1.- MODELO FARMACOCINETICO Y ESTIMACION DE PARAMETROS DE GENTAMICINA. ESTUDIO EN PACIENTES DIABETICOS Y NO DIABETICOS DURANTE LA SESION DE HEMODIALISIS.

MODELO I

El primer modelo farmacocinético utilizado y recogido en la figura XXI, consta de tres compartimentos: (129)

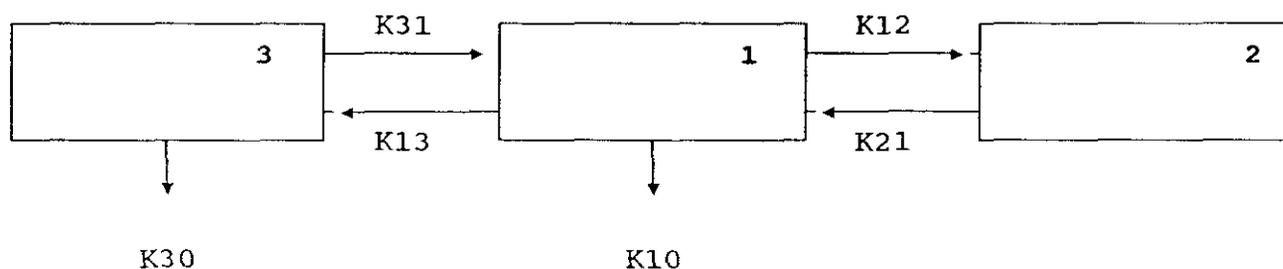


Fig. XXI

Los compartimentos 1 y 2 describen la disposición del

medicamento en el organismo y mantienen el mismo significado que el modelo bicompartimental utilizado en la práctica de forma habitual.

El compartimento 3, corresponde a la cantidad de medicamento presente en la célula de diálisis. La transferencia de materia entre los compartimentos 1 y 3 está controlada por el flujo de plasma que llega a la célula de diálisis, de forma que las constantes de velocidad de transferencia entre ambos compartimentos son:

$$K_{13} = Q_p / V_1$$

$$K_{31} = Q_p / V_3$$

donde, Q_p es el flujo con que la sangre llega al filtro y V_1 y V_3 son los volúmenes del compartimento central y del plasma contenido en la célula de diálisis respectivamente.

En este modelo se asume que el régimen de circulación de plasma a través de la célula de diálisis puede asemejarse a un sistema de mezcla perfecta y la que velocidad el proceso de difusión es proporcional a la cantidad de medicamento presente en la célula.

MATERIAL Y METODOLOGIA

De acuerdo con este planteamiento, el modelo queda definido por las siguientes ecuaciones:

$$dX_1/dt = - K_1 \cdot X_1 + K_{21} \cdot X_2 + K_{31} \cdot X_3 \quad \text{Ec. 14}$$

$$dX_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2 \quad \text{Ec. 15}$$

$$dX_3/dt = K_{13} \cdot X_1 - K_3 \cdot X_3 \quad \text{Ec. 16}$$

donde X_1 , X_2 y X_3 son las cantidades de medicamento que constituyen los compartimentos 1, 2 y 3, $K_1 = K_{12} + K_{13} + K_{10}$ y $K_3 = K_{31} + K_{30}$.

El sistema de ecuaciones diferenciales planteado se puede expresar de la siguiente forma :

$$\dot{X} = -K \cdot X \quad \text{Ec. 17}$$

donde:

$$K = \begin{bmatrix} K_1 & -K_{21} & -K_{31} \\ -K_{12} & K_{21} & 0 \\ -K_{13} & 0 & K_3 \end{bmatrix}$$

Ec. 18

y $X' = (X_1, X_2, X_3)$. El resultado de integrar el sistema (Ec.17) es:

$$X = H \cdot e^{\lambda t} \cdot H^{-1} \cdot X_0$$

donde λ es el vector formado por los valores propios de la matriz K , H la matriz formada por los vectores propios correspondientes, X_0 es el vector de las condiciones iniciales del sistema e I la matriz unidad. Los valores propios de la matriz K son siempre reales y negativos. En consecuencia, la solución para cada uno de los compartimentos viene dada por una función triexponencial. Las concentraciones a la entrada y a la salida del dializador están relacionadas con X_1 y X_3 mediante los respectivos volúmenes de distribución V_1 y V_3 .

De los ocho parámetros farmacocinéticos que incorpora el modelo, dos son conocidos "a priori": V_3 y K_{31} ya que $K_{31} = Q_p/V_3$. El valor de Q_p se define a partir del flujo de sangre que

MATERIAL Y METODOLOGIA

recibe la célula de diálisis y el hematocrito del paciente, V_3 se define a partir de los datos del fabricante. K_{13} se calcula a partir de Q_p y la estimada de V_1 , por lo que no se puede considerar como parámetro independiente.

La estimación de la constante K_{30} se realiza a partir del coeficiente de extracción ER , Q_p y V_3 teniendo en cuenta que:

$$ER = 1 - (C_3 / C_1) \quad \text{Ec. 19}$$

La relación de concentraciones a la entrada y salida del dializador en el equilibrio viene dada por:

$$C_3 / C_1 = 1 / (1 + K_{30} * \tau). \quad \text{Ec. 20}$$

donde τ es el tiempo medio de residencia del compartimento, en nuestro caso igual a V_3/Q_p . (129).

Si relacionamos ambas expresiones, el coeficiente de extracción vendrá dado por :

$$ER = K_{30} \cdot V_3 / Q_p + K_{30} \cdot V_3 \quad \text{Ec. 21}$$

de donde fácilmente se puede determinar K_{30} .

La estimación inicial de K_{10} se realiza a partir del aclaramiento plasmático del paciente que, a su vez, se determinó por la diferencia entre el aclaramiento plasmático total (Cl_p) y el aclaramiento plasmático del dializador que es igual a $ER \cdot Q_p$

$$K_{10} = (Cl_p - ER \cdot Q_p) / V_1 \quad \text{Ec. 22}$$

Por último, la estimación inicial de K_{12} , K_{21} y V_1 se lleva a cabo por el método de residuales, asumiendo que la evolución de CV_1 en función del tiempo se adapta a un modelo bicompartimental abierto, como consecuencia de la pequeña magnitud y la elevada perfusión del compartimento 3.

MODELO II

El segundo modelo farmacocinético utilizado y recogido en la figura XXII, consta de cuatro compartimentos:

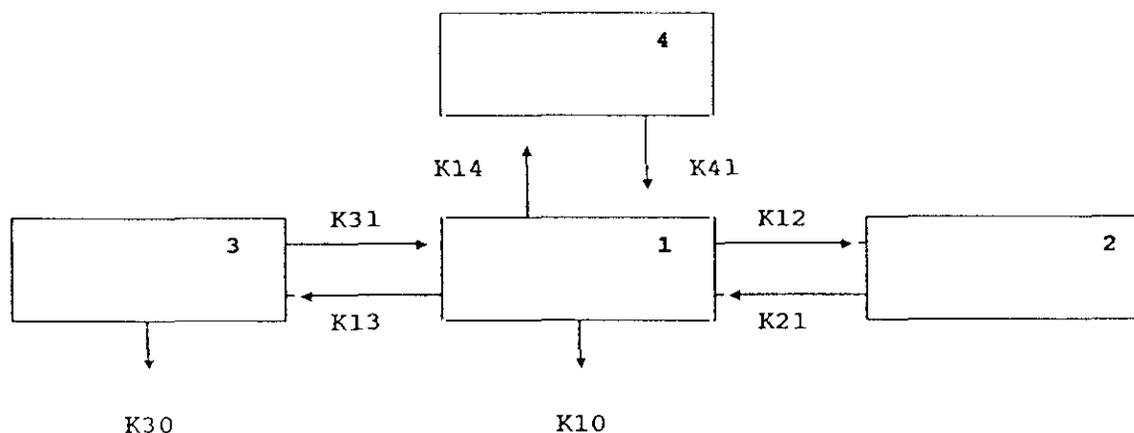


Fig. XXII

Los compartimentos 1, 2 y 3 tienen una significación análoga a la descrita en el modelo anterior. El compartimento 4 es un segundo compartimento periférico, donde el equilibrio de distribución se alcanza más tardíamente que en el primer compartimento periférico o compartimento 2. Es decir, la única diferencia entre ambos compartimentos periféricos es el tiempo en que tarda en alcanzarse el equilibrio de distribución.

De acuerdo con este planteamiento, el modelo queda definido por las siguientes ecuaciones:

$$dx_1/dt = -K_1 \cdot X_1 + K_{21} \cdot X_2 + K_{31} \cdot X_3 + K_{41} \cdot X_4 \quad \text{Ec. 23}$$

$$dx_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2 \quad \text{Ec. 24}$$

$$dX_3/dt = K_{13} \cdot X_1 - K_3 \cdot X_3 \quad \text{Ec. 25}$$

$$dX_4/dt = K_{14} \cdot X_1 - K_{41} \cdot X_4 \quad \text{Ec. 26}$$

donde X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son las cantidades de medicamento existentes en los compartimentos 1, 2, 3 y 4.

$$K_1 = K_{12} + K_{13} + K_{10} + K_{14} \quad \text{y} \quad K_3 = K_{31} + K_{30}$$

Con un planteamiento análogo al descrito para el MODELO I, las cuatro ecuaciones diferenciales se pueden expresar de la siguiente forma:

$$X = -K \cdot X \quad \text{Ec. 27}$$

donde:

$$K = \begin{pmatrix} K_1 & -K_{21} & -K_{13} & -K_{14} \\ -K_{12} & K_{21} & 0 & 0 \\ -K_{13} & 0 & K_3 & 0 \\ -K_{14} & 0 & 0 & K_{41} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 28}$$

MATERIAL Y METODOLOGIA

$$y \quad X' = (X_1, X_2, X_3, X_4).$$

En este caso, la solución para cada compartimento viene dada por una función de cuatro exponenciales .

Como estimados iniciales se utilizaron los parámetros ajustados de acuerdo al MODELO I. De los dos nuevos parámetros que incorpora el modelo, K_{14} y K_{41} , el estimado inicial de K_{14} fue siempre un valor inferior al correspondiente a K_{10} . A K_{41} se le asignó inicialmente un valor muy bajo del orden de $1 \cdot 10^{-4}$, ya que durante el tiempo de duración de la sesión de hemodiálisis (aproximadamente 5 horas) difícilmente se va a producir un retorno al compartimento central, aunque es posible que a tiempos más largos se manifieste una fase más lenta de eliminación que, en cualquier caso, se nos escaparía de la posible detección experimental.

La estimación estadística de los parámetros se llevó a cabo, tanto para el MODELO I como para el MODELO II, mediante el programa ADAPT anteriormente descrito (pag. 128). Dicho programa permite el ajuste simultáneo de $C_1(t)$ y $C_3(t)$. Debido a que el margen de concentraciones a la entrada y salida del dializador son similares, y todas las observaciones se conocen con igual certeza, no nos pareció oportuno introducir ningún criterio de ponderación específico para cada variable dependiente.

Los dos modelos descritos fueron contrastados, en todas sus experiencias, frente a un modelo reducido en el que se asume la hipótesis nula $H_0: K_{10} = 0$, utilizando para ello el siguiente test F (130) :

$$F = (SSR - SSG / SSG) (dfG / dfR - dfG) \quad \text{Ec. 29}$$

donde **SSR** es la suma de cuadrados residuales obtenidas con los parámetros **R**, **SSG** con los parámetros **G** y **df** los grados de libertad igual al número de datos utilizados para ajustar las curvas menos el número de parámetros ajustados ($dfR > dfG$).

5.2.- MODELO FARMACOCINETICO Y ESTIMACION DE PARAMETROS DE GENTAMICINA EN DOSIS MULTIPLE. ESTUDIO EN CONEJOS.

El modelo farmacocinético planteado para el tratamiento de los datos experimentales, fue el modelo bicompartimental cuyo esquema queda recogido en la figura XXIII:

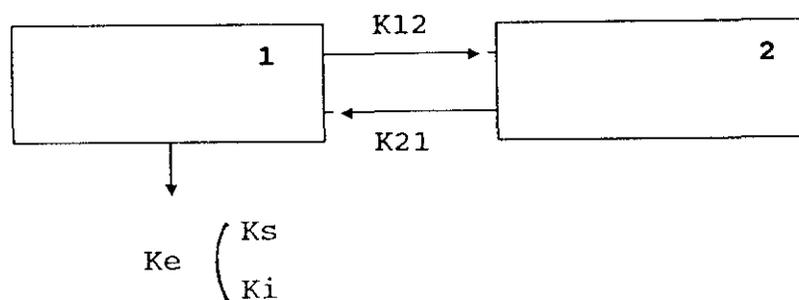


Fig. XXIII

En él, se lleva a cabo el desdoblamiento de la constante de salida del compartimento central. Este desdoblamiento está basado en la conocida existencia, para numerosos medicamentos de una relación lineal entre la constante de eliminación y

el aclaramiento de creatinina, consideradas como variable dependiente e independiente respectivamente.

Así, puede establecerse la siguiente relación:

$$K_e = K_i + K_s \cdot ClCR \quad Ec. 30$$

De esta forma se introduce en el cálculo matemático de los parámetros farmacocinéticos el valor de un nuevo parámetro: El aclaramiento de creatinina.

De acuerdo con el modelo básico propuesto se establecen las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$dX_1/dt = -K_{12} \cdot X_1 - (K_i + K_s \cdot ClCR) \quad Ec. 31$$

$$dX_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2 \quad Ec. 32$$

donde X_1 y X_2 son las cantidades de medicamento en los compartimentos 1 y 2.

MATERIAL Y METODOLOGIA

La estimación inicial de los parámetros farmacocinéticos que definen el modelo, se llevó a cabo por el método de residuales asumiendo que la evolución de la concentración de medicamento en función del tiempo, tras la administración de la última dosis, se adapta a un modelo bicompartimental abierto.

La estimación estadística de los parámetros se realiza mediante el programa ADAPT anteriormente descrito (pag 128).

6.- ANALISIS ESTADISTICO

La evaluación estadística de las diferentes variables estudiadas en la presente memoria experimental, se realizó de acuerdo con la aceptación o el rechazo de la hipótesis nula, consistente en suponer que el efecto que se desea comprobar no existe, es decir que la diferencia observada es debida al azar del muestreo. Nuestro criterio por tanto ha sido :

.- Aceptar la hipótesis nula si su probabilidad (la de ser debida a la variación experimental), es superior a 0.05. En este caso la diferencia no es significativa.

.- Rechazar la hipótesis nula si su probabilidad es inferior a 0.05. Este umbral habitual en los estudios biológicos nos dió una seguridad suficiente en la mayoría de las situaciones experimentales. En este caso la diferencia es significativa.

Teniendo en cuenta estos criterios la comparación de las variables se llevó a cabo mediante la aplicación de test

MATERIAL Y METODOLOGIA

paramétricos y no paramétricos dependiendo de los diferentes ensayos.

6.1.- Análisis farmacocinético en pacientes diabéticos y no diabéticos durante la sesión de hemodiálisis.

En este estudio caracterizado por la reducida extensión de la población muestral se optó por la aplicación de pruebas no paramétricas. Dichas pruebas no dependen de la distribución de la variable y no precisan de la condición previa de normalidad de las poblaciones. No se manejan, en ellas, los valores cuantitativos que toma la variable sino, únicamente, sus rangos. Es por ello que se trata de pruebas de menor precisión; es decir que demuestran como significativas diferencias mayores.

Entre los test no paramétricos existentes hemos escogido para comparar la homogeneidad de dos medias en el caso de muestras independientes el test de Mann-Whitney.

6.2.- Análisis farmacocinético en dosis múltiple. Estudio en conejos.

En dicho estudio fueron utilizados tanto test no paramétricos como paramétricos. Entre los no paramétricos se escogió el test de Kruskal-Wallis. Se trata de una generalización de la prueba de Mann-Whitney que nos permitió comparar en bloque un conjunto de muestras. (133).

En lo que se refiere a las pruebas paramétricas el análisis de la varianza nos permitió comparar, indirectamente, varias medias aritmeticas obtenidas de diferentes muestras, por medio de la comparación directa de sus dispersiones.

La comparación de las varianzas como paso previo a la comparación de los grupos de medias nos permitió conocer si las muestras objeto de estudio podian ser consideradas o no homogeneas. Para ello se empleó el test de Bartlett. (134)

Con el objeto de particularizar las diferencias entre las distintas medias obtenidas despues de un análisis de la varianza se aplicaron los test de Sheffe y de Tukey . (134)

El test de la t de Student fue utilizado en el estudio de

MATERIAL Y METODOLOGIA

la comparación de dos medias. (133).

Como paso previo a la comparación de dos medias se empleó la F de Snedecor. (133). Este test nos permitió conocer si las 2 muestras objeto de estudio podían ser consideradas o no homogéneas.

El tratamiento estadístico empleado en esta memoria fue realizado con el programa STATGRAPHICS (Statistical Graphics Corporation), ejecutado en un PC.

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

RESULTADOS Y DISCUSION

I. TECNICA ANALITICA

RESULTADOS Y DISCUSION

La técnica microbiológica de difusión se caracteriza por su sencillez, por ser innecesarios equipos costosos y por una sensibilidad suficientemente alta como para ser utilizada en los estudios tanto " in vivo" como " in vitro". El principal inconveniente está, pues, en normalizarlos de forma que se alcance una precisión comparable con los que presentan otros métodos analíticos físico-químicos. Para evitar este inconveniente hemos triplicado tanto las muestras problema como los patrones utilizados en las rectas de calibración.

Con el fin de detectar las posibles desviaciones del método analítico se tomaron como parámetros de control la pendiente y la ordenada al origen de la recta de regresión. Se determinaron los intervalos de confianza para las observaciones y se elaboró la carta de control resultante.

La tabla 1 recoge los parámetros de control utilizados en las experiencias así como los intervalos de confianza calculados para una probabilidad del 95 %.

La figura 1 representa estos resultados y en ella se incluyen las líneas correspondientes al valor medio y a los límites para un 95 % de probabilidad.

Como puede observarse tan solo resultaron fuera de control

RESULTADOS Y DISCUSION

las rectas de calibrado correspondientes a las experiencias 1 y 3. Hemos de destacar el hecho de que la utilidad de estas cartas de control es fundamentalmente " a posteriori", es decir, han servido para evaluar la puesta a punto de nuestro método de valoración y por tanto los resultados experimentalmente obtenidos. Nos servirán en lo sucesivo como punto de referencia para la valoración de la gentamicina por el método de difusión en agar.

RESULTADOS Y DISCUSION

a	b	r
1.5415	0.5586	0.9951
1.4309	0.4510	0.9969
1.4212	0.5610	0.9958
1.1454	0.4636	0.9970
1.4901	0.3770	0.9942
1.1693	0.4292	0.9951
1.1406	0.4122	0.9936
1.1097	0.4833	0.9935
1.3151	0.4162	0.9974
1.1965	0.3025	0.9979
1.2354	0.3917	0.9907
1.1024	0.3480	0.9956
1.4893	0.4360	0.9954
1.2942	0.3570	0.9960
1.4437	0.4772	0.9929
1.4135	0.4189	0.9963
1.3013	0.3553	0.9988
1.3114	0.4047	0.9960
1.2991	0.3577	0.9918
1.3004	0.3523	0.9969
1.1039	0.3291	0.9968
1.0064	0.2846	0.9970
1.1204	0.3179	0.9965
1.1626	0.3193	0.9956
1.2080	0.3806	0.9979
1.0998	0.3450	0.9950
1.0767	0.3721	0.9970
1.0691	0.3626	0.9963
1.1098	0.3400	0.9939
1.1512	0.3500	0.9967

n = 30	$O = a + b * \log C$
Xa = 1.2430	Sa = 0.1467
Xb = 0.3891	Sb = 0.070
intervalo de confianza a = 1.5430 - 0.9429	
intervalo de confianza b = 0.5328 - 0.2453	

Tabla 1. Parámetros de la regresión lineal de las rectas de calibrado.

RESULTADOS Y DISCUSION

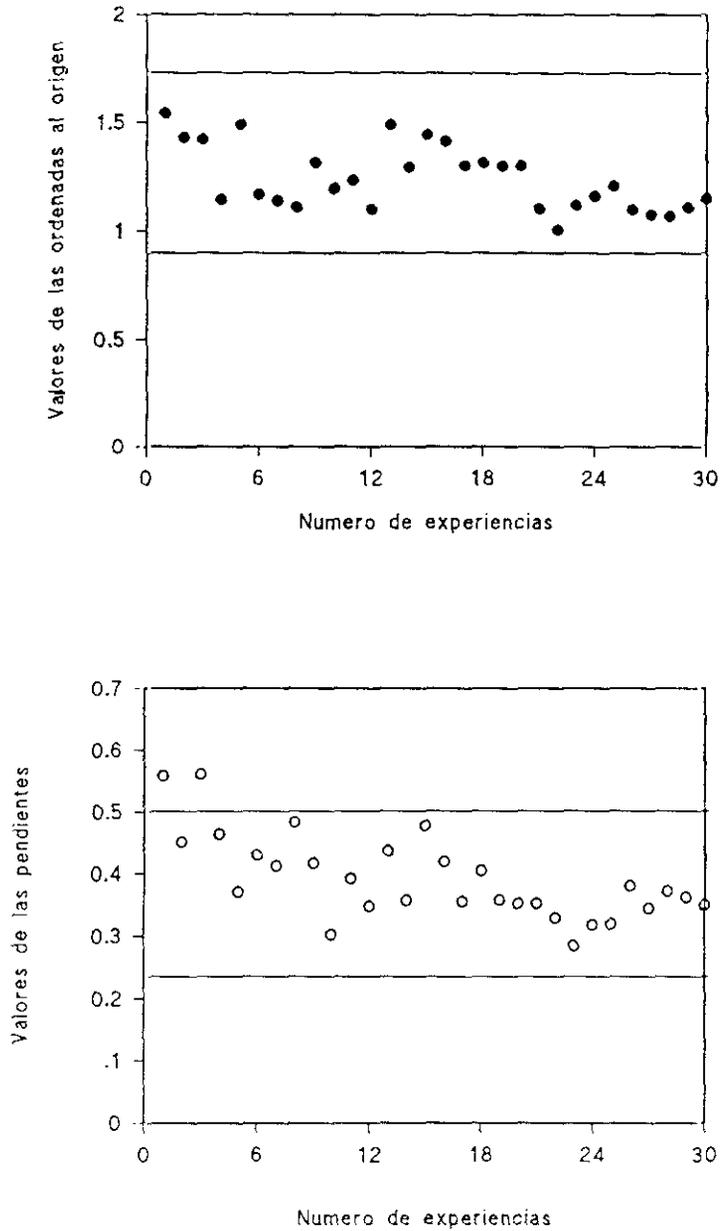


Fig. 1 . Cartas de control del método analítico. ●.Ordenadas al origen. ○.Pendientes.

RESULTADOS Y DISCUSION

II. LA DIABETES MELLITUS EN LA PREVENCION DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR GENTAMICINA. ESTUDIO EN PACIENTES DURANTE LA SESION DE HEMODIALISIS

Existen numerosos datos bibliográficos que sugieren que la Diabetes Mellitus proporciona una marcada protección frente al desarrollo de un fallo renal agudo inducido por gentamicina. En toda la bibliografía manejada por nosotros, y recogida en la introducción de esta memoria, los estudios se realizan en animal de experimentación a los que se induce la diabetes mellitus con estreptozocina en dosis que oscilan entre 50 y 60 mg/Kg durante varias semanas antes de iniciar el estudio.

Las conclusiones a las que llegan estos autores confirman que a igualdad de dosis y duración de tratamiento:

- 1.- La supervivencia del animal diabético es muy superior a la del animal no diabético.
- 2.- La razón de esta supervivencia se debe a que la acumulación del antibiótico en la corteza renal es, aproximadamente, la cuarta parte en animal diabético que en el no diabético.
- 3.- El examen morfológico del túbulo renal pone de manifiesto la integridad de las células tubulares, no observándose evidencia de lesión en los grupos de animales diabéticos y, por el contrario, gran variedad de necrosis tubular en los animales no diabéticos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Además de estas observaciones, se confirma que:

- La duración, en el tiempo, del proceso diabético no influye en la prevención de la nefrotoxicidad.
- La protección se produce durante los primeros días de tratamiento (primero y segundo día de administración de gentamicina).

A la vista de estos hechos, y una vez demostrado que la intensa glucosuria que presenta el animal diabético no interfiere en la incorporación de gentamicina a la célula del túbulo renal y no es, por tanto, la causa de que la acumulación intracelular sea menor y disminuya el daño renal, Vaamonde y colaboradores (76) sugieren que el comportamiento diferencial entre ambos grupos de animales, se debe a un incremento en el aclaramiento plasmático aunque no exista evidencia probada de una exaltación del metabolismo.

No cabe ninguna duda que la gentamicina (y probablemente cualquier otro antibiótico aminoglucósido) en animal de experimentación tiene un comportamiento distinto en diabéticos y en no diabéticos, como consecuencia de una menor acumulación en tejido renal. Estas diferencias implicarían modificaciones en los parámetros farmacocinéticos de distribución del

antibiótico, cuya evaluación y análisis podría explicar los posibles mecanismos mediante los cuales la diabetes mellitus juega un papel importante en la protección al daño renal que se produce en el tratamiento con gentamicina.

Por todas estas razones, nos pareció oportuno realizar el estudio farmacocinético de la gentamicina en dos grupos de pacientes (diabéticos y no diabéticos) a fin de comprobar posibles modificaciones en dichos parámetros que nos permitan aceptar que, en humanos, también se manifiesta una clara diferencia de comportamiento.

El estudio se lleva a cabo sobre doce pacientes insuficientes renales crónicos, con función renal residual nula, sometidos a un programa de hemodiálisis de cinco horas de duración durante tres días a la semana. Los pacientes recibieron información a cerca del estudio y dieron su consentimiento para participar en el mismo.

Los doce pacientes, cuyos datos se encuentran recogidos en el apartado de Materiales y Metodología, se dividieron en dos grupos:

GRUPO I.- Pacientes insuficientes renales crónicos sin otra patología asociada.

RESULTADOS Y DISCUSION

GRUPO II.- Pacientes insuficientes renales crónicos y con diabetes mellitus tipo I pre-existente.

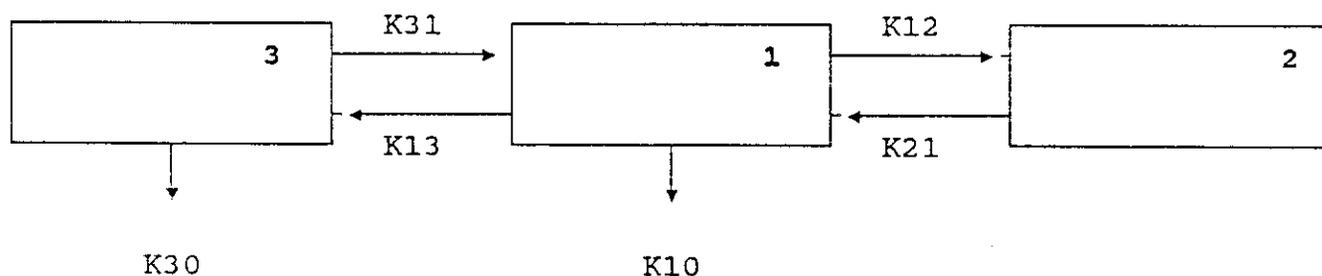
Las concentraciones plasmáticas de gentamicina obtenidas al analizar las muestras extraídas a la entrada C(1) y salida C(3) del dializador se encuentran recogidas en las tablas 2 y 3 para los seis pacientes insuficientes renales no diabéticos estudiados. Asimismo, las tablas 4 y 5 muestran los niveles de gentamicina correspondientes a los seis pacientes insuficientes renales diabéticos que participaron en este estudio (ANEXO I pag. 201-202).

II.a.- ANALISIS FARMACOCINETICO

A fin de evaluar la eliminación de medicamento durante la hemodiálisis se emplean en la práctica de forma habitual los parámetros aclaramiento y dializancia (135), estimados a partir de las concentraciones a la entrada y a la salida del sistema extracorpóreo, independientemente de cual sea la disposición del medicamento en el organismo. Sin embargo, cuando se trata de un estudio farmacocinético que requiere la estimación estadística de los parámetros que lo definen, como es nuestro caso, será necesario utilizar un modelo que permita la estimación conjunta de los parámetros de disposición y los de eliminación extracorpórea.

Llabres y colaboradores (129) proponen medir la eficacia de la terapia extrarenal utilizando un modelo farmacocinético que incorpora un compartimento adicional para el sistema extracorpóreo; de esta forma, la eliminación del medicamento se interpreta en función de los aclaramientos intercompartimentales y por las capacidades del organismo y del sistema externo para extraer el medicamento.

El modelo farmacocinético utilizado consta de tres compartimentos:



MODELO I

RESULTADOS Y DISCUSION

Los compartimentos 1 y 2 se utilizaron para describir la disposición del medicamento en el organismo y mantienen el mismo significado que en el modelo bicompartimental utilizado en la práctica de forma habitual. El compartimento 3, está formado por la cantidad de medicamento presente en la célula de diálisis.

El planteamiento del modelo y la estimación inicial de parámetros queda recogida en el apartado de Materiales y Metodología (pag. 144).

La estimación estadística de parámetros se realizó mediante el programa ADAPT, que permite la integración de las ecuaciones diferenciales:

$$dX_1/dt = - K_1 \cdot X_1 + K_{21} \cdot X_2 + K_{31} \cdot X_3 \quad (14)$$

$$dX_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2 \quad (15)$$

$$dX_3/dt = K_{13} \cdot X_1 - K_3 \cdot X_3 \quad (16)$$

Se realiza el ajuste simultáneo de $C_1(t)$ y $C_3(t)$ sin

RESULTADOS Y DISCUSION

introducir ningún criterio de ponderación específico para cada variable independiente ya que, a nuestro juicio, los márgenes de concentraciones de gentamicina a la entrada y salida del dializador son muy similares.

A título de ejemplo en el ANEXO Ia (pag.235), se recogen los ajustes correspondientes a los pacientes 2 y 8, no diabético y diabético respectivamente.

En un principio, se realiza el ajuste de niveles plasmáticos a un modelo global. Las tablas 6 y 7 recogen los parámetros farmacocinéticos estimados para cada una de las experiencias, los parámetros fijados "a priori", los valores medios, desviación estándar y coeficientes de variación obtenidos. De igual forma las tablas 8 y 9 recogen los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste de niveles plasmáticos a un modelo reducido en el que se asume la hipótesis nula $H_0: K_{10} = 0$. (ANEXO I pag.205-206).

Apenas se producen diferencias entre ambos tipos de ajustes y es de destacar en todos los casos el alto valor de la constante K_3 , del orden de 247 a 280 h^{-1} , debido a que el modelo incorpora un compartimento, $X_3(t)$, muy pequeño frente a otros dos y recibe una perfusión relativa muy alta; es de esperar, por tanto, que el valor de dicha constante sea muy elevado y el tiempo necesario para alcanzar el pseudo-

RESULTADOS Y DISCUSION

equilibrio de distribución muy corto.

Cuando se aplica el test F, a fin de contrastar un modelo global y un modelo reducido, los resultados que se obtienen, y recogen en la tabla 10 (ANEXO I pag.207), muestran que en el grupo de pacientes no diabéticos, los individuos 2, 3 y 4 presentan diferencias no significativas por lo que se acepta, en estas tres experiencias la hipótesis nula $H_0: K_{10} = 0$. En el grupo de pacientes diabéticos ocurre lo mismo para los individuos 7, 9 y 10, experiencias en las que fue aceptada la hipótesis nula referida. Las tablas 11 y 12 reúnen los parámetros farmacocinéticos definitivos estimados para cada una de las experiencias correspondientes a los pacientes no diabéticos y diabéticos respectivamente. En aquellos casos en que fue aceptada la hipótesis nula $H_0: K_{10} = 0$, los resultados corresponden a la estimación con el modelo reducido (ANEXO I pag. 208-209).

Una vez establecidos los parámetros que definen el modelo, se resuelven las matrices correspondientes tal y como se planteó en el apartado de Material y Metodología (pag 147). La solución para $X^t = (80,0,0)$ nos permite calcular las cantidades de medicamento que constituyen cada uno de los compartimentos en función del tiempo. Así, las ecuaciones que definen X_1 , X_2 y X_3 determinadas a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los seis pacientes no diabéticos son:

RESULTADOS Y DISCUSION

$$X_{(1)} = 59 \cdot e^{-3.94t} + 20.8 \cdot e^{-0.14t} + 19.2 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-382.23t}$$

$$X_{(2)} = -51.76 \cdot e^{-3.94t} + 51.84 \cdot e^{-0.14t} - 1.32 \cdot e^{-382.23t}$$

$$X_{(3)} = 0.20 \cdot e^{-3.94t} + 6.9 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-0.14t} - 0.265 \cdot e^{-382.23t}$$

De igual forma, para el grupo de pacientes diabéticos:

$$X_{(1)} = 59.6 \cdot e^{-3.46t} + 20.16 \cdot e^{-0.17t} + 17.6 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-404.6t}$$

$$X_{(2)} = -49.68 \cdot e^{-3.46t} + 49.68 \cdot e^{-0.17t} - 0.8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-404.6t}$$

$$X_{(3)} = 0.19 \cdot e^{-3.46t} + 6.3 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-0.17t} - 0.25 \cdot e^{-404.6t}$$

RESULTADOS Y DISCUSION

Cuya evolución en el tiempo queda reflejada en las figuras 2 y 3 y recogidas en las tablas 13 y 14 (ANEXO I pag.210-211)

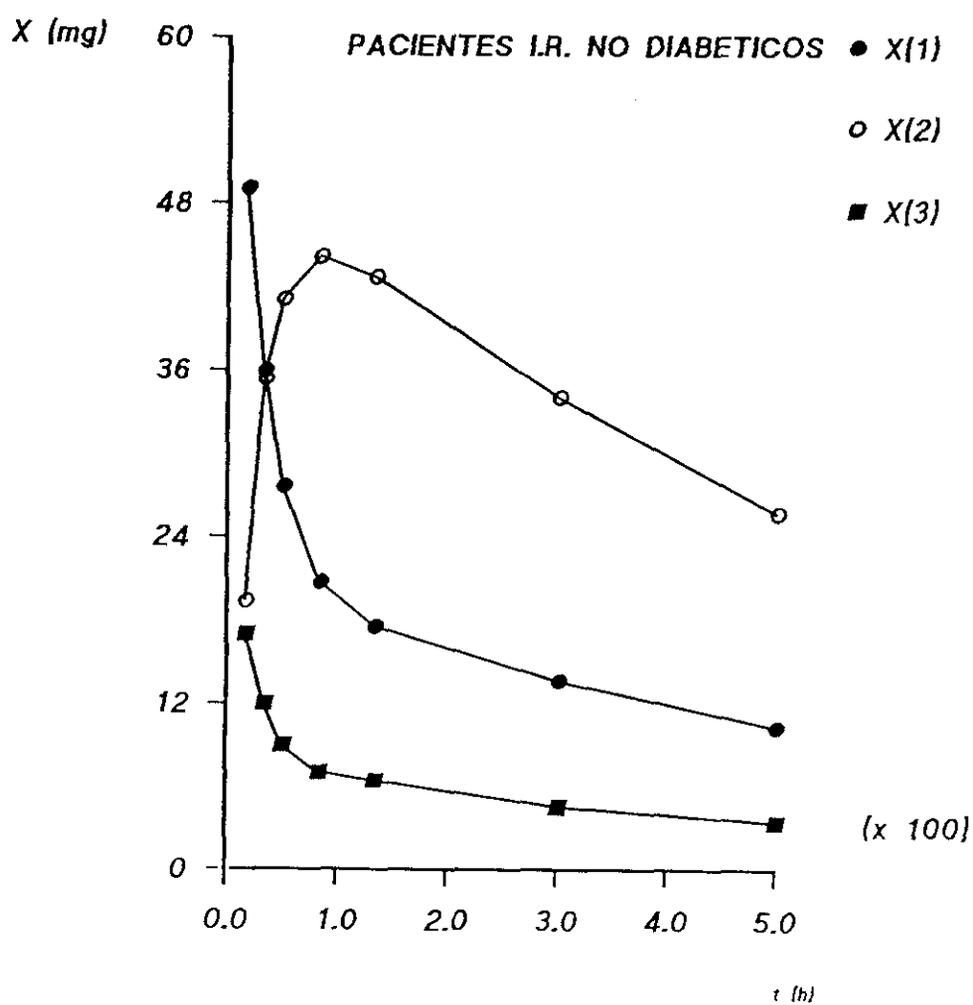


Fig. 2. Evolución en el tiempo de la cantidad de medicamento existente en los compartimentos 1, 2 y 3. Simulación del modelo a partir de los valores medios de los parámetros estimados.

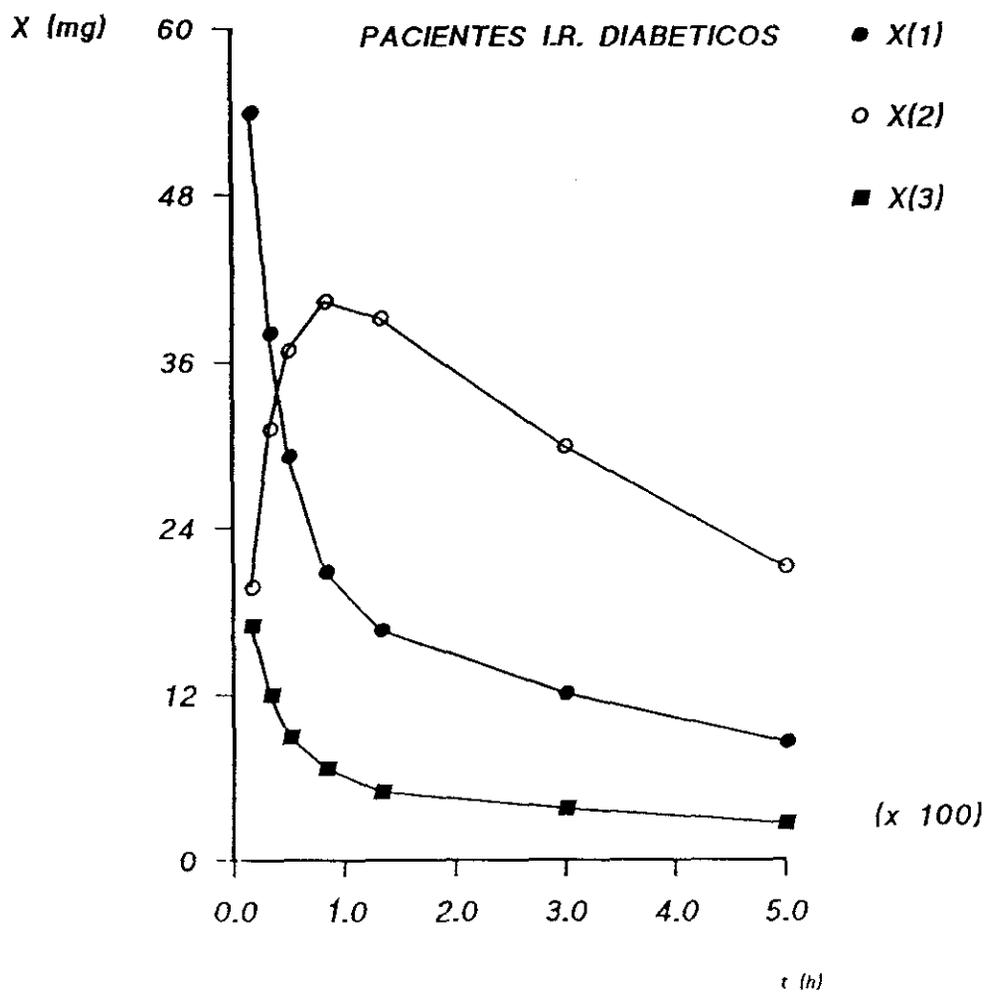


Fig. 3. Evolución en el tiempo de la cantidad de medicamento existente en los compartimentos 1, 2 y 3. Simulación del modelo a partir de los valores medios de los parámetros estimados.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tal y como se ha dicho, la contribución de $X_3(t)$ al balance total de materia es muy pequeño. El valor de λ tan elevado (con valores de $t_{1/2}$ que en ambos casos no exceden de seis segundos) refleja el paso del compartimento 1 al 3 con muy poca significación desde el punto de vista práctico. Sin embargo resulta imprescindible el incluir este compartimento si queremos interpretar simultáneamente las concentraciones plasmáticas a la entrada y salida del dializador.

Así, si consideramos los valores medios de $V_1 = 11.9$ l y $V_3 = 0.0528$ l correspondientes al grupo de pacientes no diabéticos:

$$C_{(1)} = 4.95 \cdot e^{-3.94t} + 1.75 \cdot e^{-0.14t} + 1.6 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-382.23t}$$

$$C_{(3)} = 3.79 \cdot e^{-3.94t} + 1.3 \cdot e^{-0.14t} - 4.8 \cdot e^{-382.23t}$$

y $V_1 = 12.03$ l y $V_3 = 0.0547$ l como los valores medios para el grupo de pacientes diabéticos:

RESULTADOS Y DISCUSION

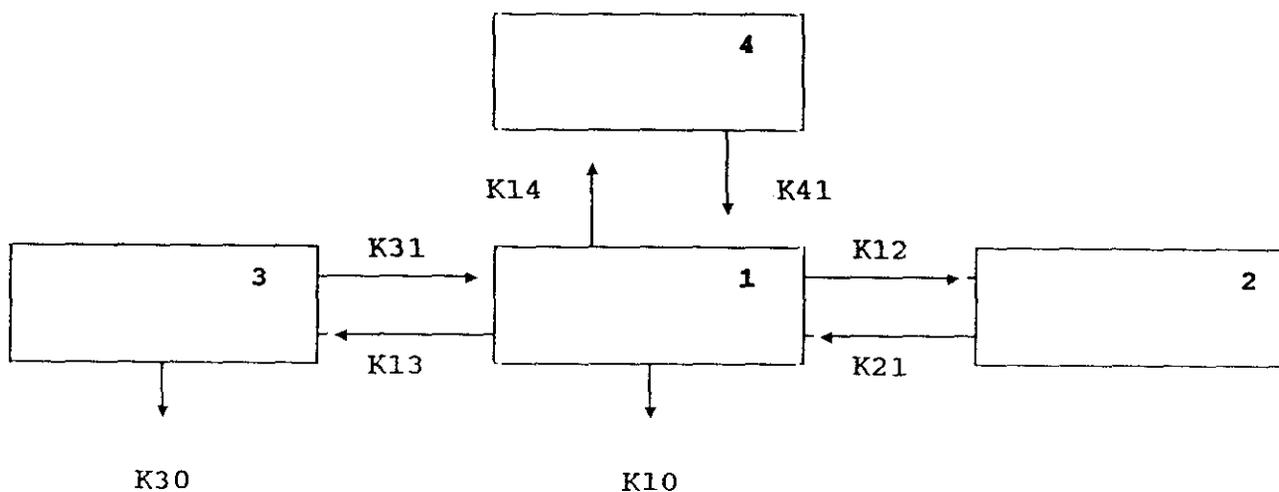
$$C_{(1)} = 4.95 \cdot e^{-3.46t} + 1.67 \cdot e^{-0.17t} + 1.4 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-404.6t}$$

$$C_{(3)} = 3.48 \cdot e^{-3.46t} + 1.15 \cdot e^{-0.17t} - 4.68 \cdot e^{-404.6t}$$

Cuando se analizan las tablas 11 y 12 que contienen los definitivos parámetros farmacocinéticos estimados, se observan valores dispares de K_{10} en ambos grupos de pacientes. Los valores oscilan entre 0.000 h^{-1} (resultados correspondientes a una estimación con el modelo reducido) y 0.506 h^{-1} para el grupo de pacientes no diabéticos y entre 0.000 h^{-1} y 0.523 h^{-1} para el grupo de pacientes diabéticos. La interpretación de este hecho es compleja ya que se trata de pacientes anúricos con función renal residual nula; los antibióticos aminoglucósidos apenas sufren metabolismo y como ya se ha indicado no existe evidencia probada de una exaltación del proceso degradativo.

Por el contrario, sí está demostrado que estos antibióticos sufren una retención en estructura renal y en menor cuantía en otros tejidos. Por ello, planteamos un segundo modelo farmacocinético que consta de cuatro compartimentos:

RESULTADOS Y DISCUSION



MODELO II

Los compartimentos 1, 2 y 3 tienen una significación análoga a la descrita en el modelo anterior. El compartimento 4 es un segundo compartimento periférico, donde el equilibrio de distribución se alcanza más tardíamente que en el primer compartimento periférico o compartimento 2. La única diferencia, por tanto, entre ambos compartimentos periféricos, es el tiempo en que tarda en alcanzarse el equilibrio de distribución.

El planteamiento del modelo y la estimación inicial de

RESULTADOS Y DISCUSION

parámetros queda recogida en el apartado de Material y Metodología (pag. 149).

Igual que para el MODELO I, la estimación estadística de parámetros se realiza mediante el programa ADAPT. El modelo farmacocinético se especifica en una subrutina escrita de acuerdo con el siguiente sistema de ecuaciones:

$$dX_1/dt = -K_1 \cdot X_1 + K_{21} \cdot X_2 + K_{31} \cdot X_3 + K_{41} \cdot X_4 \quad (23)$$

$$dX_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2 \quad (24)$$

$$dX_3/dt = K_{13} \cdot X_1 - K_3 \cdot X_3 \quad (25)$$

$$dX_4/dt = K_{14} \cdot X_1 - K_{41} \cdot X_4 \quad (26)$$

Como en el caso anterior, Q_p y V_3 son conocidos y K_{13} es dependiente de la estimada V_1 .

A título de ejemplo en el Anexo Ia (pag 235) se recogen los ajustes correspondientes a los pacientes 2 y 8, no diabético y diabético respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las tablas 15 y 16 recogen los parámetros farmacocinéticos estimados, los parámetros fijados "a priori", los valores medios, desviación estándar y coeficientes de variación obtenidos tras el ajuste de niveles plasmáticos de gentamicina a un modelo global. Asimismo, las tablas 17 y 18 recogen los parámetros obtenidos, en toda la población tratada, cuando el ajuste de niveles plasmáticos se realiza de acuerdo a un modelo reducido, en el que se asume la hipótesis nula $H_0: K_{10} = 0$ (Anexo I pag 214-215).

Si se comparan estos resultados con los obtenidos tras el ajuste al MODELO I, se observa que apenas se producen diferencias en las constantes microscópicas de farmacotransferencia (K_{12} , K_{21} , K_{30} , K_{13} y K_{31}) y volumen de distribución V_1 . Sin embargo, la constante K_{10} adopta valores mucho más bajos, manifestándose una clara transferencia hacia el compartimento 4. La constante de retorno del compartimento 4 al 1 toma un valor muy pequeño, como cabe esperar, ya que el tiempo de duración de la sesión de hemodiálisis (aproximadamente 5 horas) es lo suficientemente corto como para que durante el mismo solo exista transferencia hacia ese compartimento y no se manifieste retorno al compartimento central.

Cuando se aplica el test F a fin de contrastar un modelo global y un modelo reducido, los resultados obtenidos se

RESULTADOS Y DISCUSION

recogen en la tabla 19 (Anexo I pag 216). Como puede observarse, en todos los casos el valor de F determinado es inferior al tabulado para un nivel de significación del 5%, lo que indica que en todos los casos se acepta la hipótesis nula, por lo que $K_{10} = 0$.

Una vez establecidos los parámetros farmacocinéticos que definen el modelo, se resuelven las matrices correspondientes descritas en el apartado de Material y Metodología (pag 151). La solución para $X' = (80, 0, 0, 0)$, nos permite calcular la cantidad de medicamento que, en función del tiempo, define cada compartimento. Las tablas 20 a la 31 (Anexo I pag 217-228) reflejan las soluciones para cada una de las matrices planteadas, así como las cantidades de gentamicina que constituyen los compartimentos 1, 2, 3 y 4.

Asimismo, a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los pacientes no diabéticos, las ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son:

$$X_{(1)} = 0.196 \cdot e^{-381.02t} + 58.72 \cdot e^{-4.04t} + 21.04 \cdot e^{-0.15t} + 6.7 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-0.3 \cdot 10^{-5}t}$$

$$X_{(2)} = -1.28 \cdot 10^{-3} \cdot e^{-381.02t} - 51.2 \cdot e^{-4.04t} + 51.2 \cdot e^{-0.15t} + 5.9 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-0.3 \cdot 10^{-5}t}$$

RESULTADOS Y DISCUSION

$$X_{(3)} = -0.27 \cdot e^{-381.02t} + 0.19 \cdot e^{-4.04t} + 0.07 \cdot e^{-0.15t} + 5.2 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-0.3 \cdot 10^{-5}t}$$

$$X_{(4)} = -8.5 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-381.02t} - 2.4 \cdot e^{-4.04t} - 23.1 \cdot e^{-0.15t} + 25.5 \cdot e^{-0.3 \cdot 10^{-5}t}$$

De igual forma, para el grupo de pacientes diabéticos:

$$X_{(1)} = 0.17 \cdot e^{-403.57t} + 59.68 \cdot e^{-3.51t} + 20.16 \cdot e^{-0.17t} + 1.4 \cdot 10^{-3} \cdot e^{-0.6 \cdot 10^{-5}t}$$

$$X_{(2)} = -9.04 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-403.57t} - 49.5 \cdot e^{-3.51t} + 49.5 \cdot e^{-0.17t} + 8.2 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-0.6 \cdot 10^{-5}t}$$

$$X_{(3)} = -0.25 \cdot e^{-403.57t} + 0.19 \cdot e^{-3.51t} + 0.06 \cdot e^{-0.17t} + 1.2 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-0.6 \cdot 10^{-5}t}$$

$$X_{(4)} = -8.0 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-403.57t} - 3.1 \cdot e^{-3.51t} - 21.28 \cdot e^{-0.17t} + 24.42 \cdot e^{-0.6 \cdot 10^{-5}t}$$

RESULTADOS Y DISCUSION

La evolución en el tiempo queda reflejada en las figuras 4 y 5. Los resultados se ponen de manifiesto en las tablas 32 y 33 (Anexo I pag 229-230).

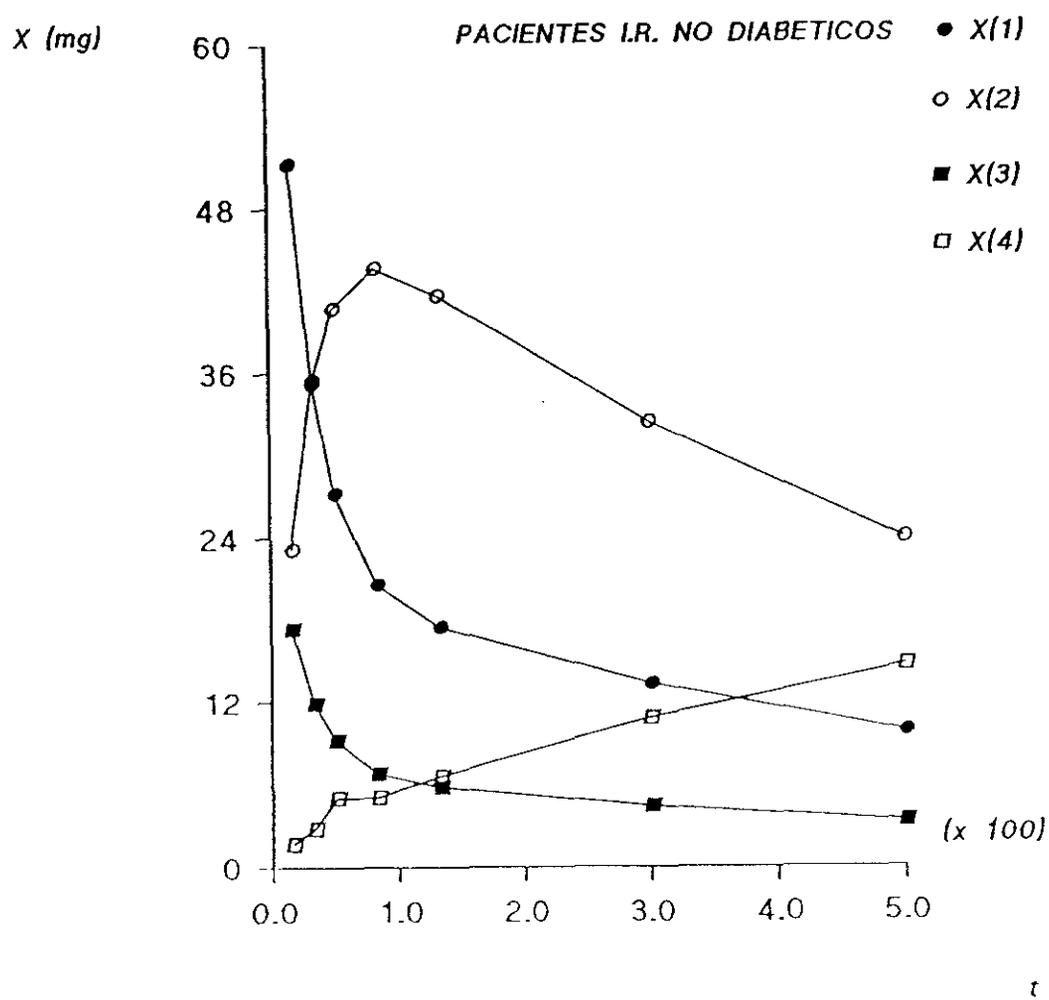


Fig 4. Evolución en el tiempo de la cantidad de medicamento en los compartimentos 1, 2, 3 y 4. Simulación del modelo a partir de los valores medios de los parámetros estimados.

RESULTADOS Y DISCUSION

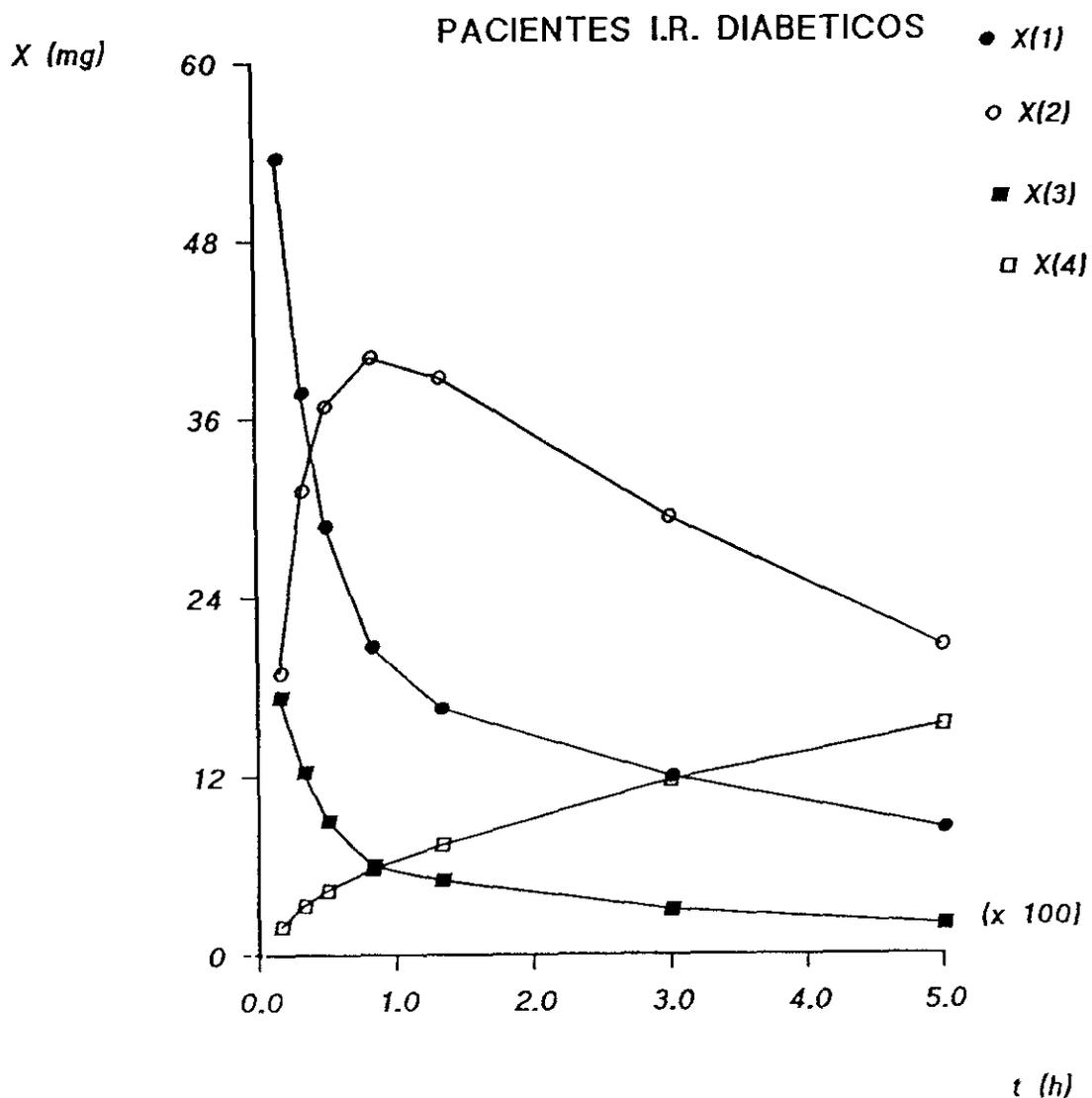


Fig. 5. Evolución en el tiempo de la cantidad de medicamento en los compartimentos 1, 2, 3 y 4. Simulación del modelo a partir de los valores medios de los parámetros estimados.

RESULTADOS Y DISCUSION

A fin de comprobar si existen o no diferencias significativas en el comportamiento farmacocinético de la gentamicina en ambos grupos de pacientes, aplicamos el tratamiento estadístico a los parámetros farmacocinéticos obtenidos de acuerdo al modelo planteado. Tal y como se expuso en el apartado de Material y Metodología (pag 157) aplicamos el test no paramétrico, denominado "Prueba de la U de Mann-Whitney", para comparar dos muestras independientes.

Como puede observarse en el cuadro I, no existen diferencias significativas entre los distintos parámetros comparados.

RESULTADOS Y DISCUSION

<u>PARAMETRO</u>	<u>Z</u> [*]	<u>VALOR CRITICO</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
K ₁₂	0.56	1.96	N.S
K ₂₁	0.66	1.96	N.S
K ₁₄	0.14	1.96	N.S
K ₁₃	0.32	1.96	N.S
K ₃₁	0.80	1.96	N.S
K ₃₀	0.64	1.96	N.S
V ₁	0.01	1.96	N.S

(*) $Z = (U - M) / \sigma U$
u

CUADRO I

RESULTADOS Y DISCUSION

Por último, calculamos los valores de AUC_0^α correspondientes a los compartimentos 1 y 2 y la cantidad de gentamicina que se elimina por depuración artificial $X_{(t)}$, calculada a partir del área bajo la curva correspondiente al compartimento 3 y K_{30} . Dichos valores quedan recogidos en la tabla 34 (ANEXO I pag 231)

Cuando se determinan las áreas parciales AUC_0^i , mediante la regla trapezoidal, se observa que los valores obtenidos son análogos entre ambos grupos, aunque totalmente diferentes entre los distintos integrantes de cada uno de ellos (tabla 35, ANEXO I pag 232), se observa únicamente que las oscilaciones que se producen en los valores de AUC_0^i correspondientes al compartimento 2 están relacionados, en la mayoría de los casos, con los valores de AUC_0^i en el compartimento 4. Así, cuando los valores de áreas parciales en el compartimento 4 son elevadas se observa una disminución de AUC_0^i en el compartimento 2 y viceversa. Esta observación es más clara cuando se analizan las áreas parciales normalizadas en función del peso del paciente para una situación estándar de 70 Kg de peso (Tabla 36, ANEXO I pag 233).

A fin de determinar las posibles diferencias en los valores de áreas parciales AUC_0^i correspondientes a los dos grupos de pacientes; se aplica, igual que en el caso anterior, la prueba U de Mann-Whitney, a los valores de AUC_0^i correspondientes al compartimento 4 y a los compartimentos 1 y 2, estos últimos normalizados. El CUADRO II refleja estos

RESULTADOS Y DISCUSION

resultados, no observándose, en ningún caso, diferencias significativas.

<u>PARAMETRO</u>	<u>Z</u> [*]	<u>VALOR CRITICO</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
X(1N)	0.37	1.96	N.S
X(2N)	0.09	1.96	N.S
X4	0.009	1.96	N.S

(*) $Z = \frac{(U-M)}{u} / \sigma U$

CUADRO II

II.b.- COMENTARIOS

A la vista de los resultados experimentales, no hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al comportamiento farmacocinético de la gentamicina en los dos grupos de pacientes, insuficientes renales, diabéticos y no diabéticos estudiados. Sin embargo, esto no supone la afirmación rotunda de que no existan.

El hecho de que no se manifestasen, en la situación estudiada por nosotros, puede deberse a la propia patología de la insuficiencia renal común a los doce pacientes tratados. Esta patología obliga a un tratamiento extracorpóreo, hemodiálisis, que proporciona, en poco tiempo, una eliminación acusada.

El hecho de haber elegido una población con insuficiencia renal crónica, sometida a depuración artificial, se debió a dos motivos:

- 1.- Existe una experiencia previa, en nuestro Departamento,

RESULTADOS Y DISCUSION

sobre estudios farmacocinéticos de antibióticos aminoglucósidos en pacientes insuficientes renales, sometidos a distintas técnicas de depuración artificial. Las condiciones son distintas, pero la experiencia acumulada nos permite afirmar que, en nuestras condiciones, el modelo farmacocinético planteado satisface los requerimientos necesarios para la estimación estadística de los parámetros de disposición y eliminación extracorpórea.

2.- La necesidad de elegir una población homogénea, en la que la eliminación del medicamento fuese análoga en la totalidad del grupo escogido, y no estuviese influenciada por la elevada diuresis del paciente diabético con función renal normal, que nos podría conducir a modificaciones en los parámetros de distribución y/o eliminación ajenos a la protección, que sobre la toxicidad de la gentamicina, pueden manifestar estos pacientes.

A N E X O I

t (h)	INDIVIDUO 1		INDIVIDUO 2		INDIVIDUO 3	
	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)
0.16	4.44	3.65	6.58	4.70	4.54	3.12
0.33	3.59	2.84	4.90	3.42	2.90	2.15
0.50	2.90	2.11	3.50	2.50	1.99	1.65
0.83	2.24	1.71	2.84	2.03	1.59	1.23
1.33	1.71	1.46	2.11	1.57	1.23	1.02
3	1.22	1.12	1.71	1.27	1.02	0.78
5	0.95	0.80	1.25	0.99	0.78	0.58

Tabla. 2. Concentraciones plasmáticas de gentamicina a la entrada $C_{(1)}$ y salida del dializador $C_{(3)}$, correspondientes a los individuos insuficientes renales no diabéticos 1, 2 y 3.

ANEXO I

	INDIVIDUO 4		INDIVIDUO 5		INDIVIDUO 6	
t (h)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)
0.16	4.21	2.98	4.75	3.24	3.04	1.93
0.33	3.12	1.97	2.76	2.11	2.11	1.51
0.50	2.32	1.63	2.23	1.61	1.54	1.17
0.83	1.99	1.35	1.70	1.23	1.28	0.93
1.33	1.65	1.12	1.30	1.04	1.07	0.77
3	1.37	0.92	0.94	0.72	0.85	0.62
5	1.02	0.71	0.72	0.55	0.74	0.50

Tabla. 3. Concentraciones plasmáticas de gentamicina a la entrada $C_{(1)}$ y salida del dializador $C_{(3)}$, correspondientes a los individuos insuficientes renales no diabéticos 4, 5 y 6.

t (h)	INDIVIDUO 7		INDIVIDUO 8		INDIVIDUO 9	
	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)
0.16	3.57	1.75	3.32	2.42	4.62	3.44
0.33	2.48	1.19	2.30	1.68	3.71	2.59
0.50	1.83	0.81	1.59	1.22	3.14	2.19
0.83	1.27	0.57	1.22	0.81	2.39	1.40
1.33	1.0	0.42	0.94	0.65	1.81	1.05
3	0.78	0.37	0.62	0.43	1.23	0.89
5	0.61	0.31	-	-	1.05	0.60

Tabla. 4. Concentraciones plasmáticas de gentamicina a la entrada $C_{(1)}$ y salida del dializador $C_{(3)}$, correspondientes a los individuos insuficientes renales diabéticos 7, 8 y 9.

ANEXO I

t (h)	INDIVIDUO 10		INDIVIDUO 11		INDIVIDUO 12	
	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)	C (1) (mcg/ml)	C (3) (mcg/ml)
0.16	6.08	4.66	4.51	3.50	6.02	4.78
0.33	4.14	3.06	2.96	2.30	4.78	3.80
0.50	3.26	2.27	2.30	1.71	3.98	3.02
0.83	2.56	1.68	1.94	1.39	2.88	2.39
1.33	2.01	1.40	1.51	0.99	2.29	1.73
3	1.58	1.04	1.12	0.80	1.58	1.20
5	1.13	0.77	0.80	0.60	1.14	0.83

Tabla. 5. Concentraciones plasmáticas de gentamicina a la entrada $C_{(1)}$ y salida del dializador $C_{(3)}$, correspondientes a los individuos insuficientes renales diabéticos 10, 11 y 12.

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
1	1.4801	1.0201	0.1695	71.59	1.0787	279.8	13.3	0.0516	14.4
2	2.0872	1.0112	0.0004	112.0	1.5934	277.3	8.28	0.0476	13.2
3	2.8500	1.0311	0.2004	103.7	1.4166	278.2	10.8	0.0550	15.3
4	2.6787	1.4193	0.0112	127.9	1.2780	272.5	12.0	0.0565	15.4
5	3.4791	1.5103	0.5062	100.9	1.6211	247.0	9.06	0.0595	14.7
6	2.3336	0.9984	0.0661	131.6	0.7137	279.5	18.2	0.0469	13.0
- X	2.4850	1.1647	0.1573	108.0	1.2838	272.4	11.93	0.0528	14.3
σ n-1	0.68	0.23	0.19	21.7	0.34	12.7	3.6	0.005	1.03
C.V %	27.4	19.7	120.9	20.0	26.5	4.7	30.2	9.5	7.2

Tabla. 6. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo I (global). Pacientes insuficientes renales no diabéticos.

ANEXO I

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (1/h)
7	2.2280	0.8285	0.0072	291.9	1.0444	269.4	14.6	0.0569	15.3
8	2.1600	1.0705	0.5235	102.36	1.0528	269.3	15.4	0.0602	16.2
9	1.2237	0.7469	0.21E-5	116.7	1.2168	269.0	13.3	0.0601	16.2
10	2.6304	1.2115	0.1085	99.8	1.7644	269.4	8.10	0.0530	14.3
11	2.9505	1.3692	0.3170	91.2	1.3630	280.0	10.5	0.0510	14.2
12	1.2169	0.8913	0.1646	76.6	1.2878	279.7	10.3	0.0473	13.2
\bar{X}	2.0677	1.0187	0.1868	129.8	1.2882	272.8	12.03	0.0547	14.9
σ n-1	0.71	0.24	0.20	80.5	0.26	5.57	2.8	0.005	1.2
C.V %	34.6	23.7	109.0	62.0	20.6	2.0	23.6	9.5	7.9

Tabla. 7. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo I (global). Pacientes insuficientes renales diabéticos.

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _P (l/h)
1	1.3510	0.6269	75.97	1.0327	279.8	13.98	0.0516	14.4
2	2.0872	1.0112	112.13	1.5934	277.3	8.28	0.0476	13.2
3	2.7430	0.8070	109.30	1.3648	278.1	11.21	0.0550	15.3
4	2.6787	1.4173	127.88	1.2793	272.5	12.04	0.0565	15.4
5	2.8030	0.8022	109.59	1.3920	247.0	10.56	0.0595	14.7
6	2.2960	0.8958	134.20	0.7029	279.5	18.49	0.0469	13.0
\bar{X}	2.3264	0.9267	111.4	1.2275	272.4	12.4	0.0528	14.3
σ n-1	0.55	0.271	20.2	0.34	12.7	3.5	0.005	1.03
C.V%	23.8	29.2	18.1	25.6	4.7	28.2	9.5	7.2

Tabla. 8. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo I (reducido). Pacientes insuficientes renales no diabéticos.

ANEXO I

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
7	2.2247	0.8228	291.9	1.0444	269.4	14.6	0.0569	15.3
8	2.2520	0.5618	103.8	0.9897	269.2	15.4	0.0602	16.2
9	1.2237	0.7469	116.7	1.2168	269.0	13.3	0.0601	16.2
10	2.5400	1.0580	106.1	1.7354	269.4	8.24	0.0530	14.3
11	2.4860	0.8440	101.7	1.2374	280.0	11.5	0.0510	14.2
12	1.1710	0.5436	80.2	1.2493	279.7	10.5	0.0473	13.2
- X	1.9829	0.7628	133.4	1.2453	272.7	12.43	0.0547	14.9
σ n-1	0.71	0.19	78.5	0.26	5.46	2.9	0.005	1.2
C.V %	35.8	24.9	58.8	20.8	2.0	23.5	9.5	7.9

Tabla. 9. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo I (reducido). Pacientes insuficientes renales diabéticos.

<u>INDIVIDUO</u>	<u>Fexp.</u>	<u>Ftab.</u>	δ 1	δ 2	<u>SIGNIFICACION</u>
1	8.1424	5.12	1	9	S
2	0.0007	5.12	1	9	N.S
3	4.8175	5.12	1	9	N.S
4	0.8740	5.12	1	9	N.S
5	17.840	5.12	1	9	S
6	13.051	5.12	1	9	S
7	0.4591	5.12	1	9	N.S
8	14.989	5.59	1	7	S
9	0.9966	5.12	1	9	N.S
10	4.0755	5.12	1	9	N.S
11	22.110	5.12	1	9	S
12	27.176	5.12	1	9	S

Tabla. 10. Aplicación del test F para contrastar un modelo global y un modelo reducido (modelo I).

ANEXO I

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
1	1.4801	1.0201	0.1695	71.59	1.0787	279.8	13.39	0.0516	14.4
2	2.0872	1.0112	0.0000	112.13	1.5934	277.3	8.28	0.0476	13.2
3	2.8500	1.0311	0.0000	103.70	1.4166	278.2	10.80	0.0550	15.3
4	2.6787	1.4173	0.0000	127.88	1.2793	272.5	12.04	0.0565	15.4
5	3.4791	1.5103	0.5062	100.99	1.6211	247.0	9.06	0.0595	14.7
6	2.3336	0.9984	0.0661	131.69	0.7137	279.5	18.21	0.0469	13.0
\bar{X}	2.4850	1.1647	0.1570	108.0	1.2838	272.4	11.9	0.0528	14.3
σ_{n-1}	0.68	0.23	0.19	21.7	0.34	12.7	3.6	0.005	1.03
C.V %	27.4	19.7	121.0	20.0	26.5	4.7	30.2	9.5	7.2

Tabla. 11. Parámetros farmacocinéticos definitivos correspondientes a pacientes insuficientes renales no diabéticos (modelo I).

INDIV	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
7	2.2247	0.8228	0.0000	291.9	1.0444	269.4	14.6	0.0569	15.3
8	2.1600	1.0705	0.5235	102.36	1.0528	269.3	15.4	0.0602	16.2
9	1.2237	0.7469	0.0000	116.7	1.2168	269.0	13.3	0.0601	16.2
10	2.6304	1.2115	0.0000	99.8	1.7644	269.4	8.10	0.0530	14.3
11	2.9505	1.3692	0.3170	91.2	1.3630	280.0	10.5	0.0510	14.2
12	1.2169	0.8913	0.1646	76.6	1.2878	279.7	10.3	0.0473	13.2
- X	2.0677	1.0187	0.1856	129.8	1.2882	272.8	12.03	0.0547	14.9
σ n-1	0.71	0.24	0.20	80.5	0.26	5.57	2.8	0.005	1.2
C.V %	34.6	23.7	109.0	62.0	20.6	2.0	23.6	9.5	7.9

Tabla. 12. Parámetros farmacocinéticos definitivos correspondientes a pacientes insuficientes renales diabéticos (modelo I).

ANEXO I

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 59.0 \cdot e^{-3.94 \cdot t} + 20.80 \cdot e^{-0.14 \cdot t} + 19.2 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-382.23 \cdot t} \\
 X_2 &= -51.76 \cdot e^{-3.94 \cdot t} + 51.84 \cdot e^{-0.14 \cdot t} - 1.32 \cdot e^{-382.23 \cdot t} \\
 X_3 &= 0.20 \cdot e^{-3.94 \cdot t} + 6.9 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-0.14 \cdot t} - 0.256 \cdot e^{-382.23 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)
0.16	49.08	19.38	0.17
0.33	35.94	35.40	0.12
0.50	27.62	41.12	0.09
0.83	20.76	44.19	0.07
1.33	17.57	42.76	0.064
3	13.67	34.06	0.045
5	10.33	25.74	0.034

Tabla. 13. Ecuaciones que definen X₁, X₂ y X₃, su evolución en el tiempo, determinadas a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los pacientes insuficientes renales no diabéticos.

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 59.6 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 20.16 \cdot e^{-0.17 \cdot t} + 17.6 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-404.63 \cdot t} \\
 X_2 &= -49.68 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 49.68 \cdot e^{-0.17 \cdot t} - 0.8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-404.63 \cdot t} \\
 X_3 &= 0.19 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 6.3 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-0.17 \cdot t} - 0.256 \cdot e^{-404.63 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)
0.16	53.88	19.78	0.17
0.33	38.08	31.11	0.12
0.50	29.09	36.82	0.09
0.83	20.87	40.33	0.067
1.33	16.68	39.13	0.050
3	12.10	29.83	0.038
5	8.61	21.23	0.027

Tabla. 14. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 y X_3 , su evolución en el tiempo, determinadas a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los pacientes insuficientes renales diabéticos.

ANEXO I

IN	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₁₄ (h-1)	K ₄₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
1	1.486	1.025	0.096	0.079	0.1E-4	71.37	1.079	279.8	13.4	0.051	14.4
2	2.089	1.013	0.5E-4	0.1E-4	0.1E-4	112.1	1.594	277.3	8.28	0.047	13.2
3	2.852	1.030	0.152	0.4E-1	0.8E-5	103.1	1.415	278.1	10.8	0.055	15.3
4	2.622	1.398	0.1E-2	0.4E-3	0.8E-6	127.3	1.269	272.5	12.0	0.056	15.4
5	3.486	1.511	0.307	0.200	0.9E-5	101.1	1.625	247.0	9.04	0.059	14.7
6	2.446	1.138	0.9E-1	0.3E-1	0.1E-6	130.5	0.732	280.1	17.7	0.047	13.0
-											
X	2.49	1.18	0.108	0.059	8.8E-6	107.5	1.28	272.4	11.88	0.052	14.3
σ											
n-1	0.68	0.22	0.113	0.075	7.4E-6	21.44	0.34	12.7	3.43	0.005	1.03
C.V%	27.4	18.7	105.4	127.2	84.3	19.94	26.5	4.7	28.9	9.5	7.2

Tabla. 15. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo II (global). Pacientes insuficientes renales no diabéticos.

IN	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₀ (h-1)	K ₁₄ (h-1)	K ₄₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
7	2.231	0.823	0.7E-5	0.1E-2	0.1E-4	292.3	1.043	268.8	14.6	0.056	15.3
8	2.166	1.060	0.316	0.200	0.8E-5	102.2	1.052	269.2	15.4	0.060	16.2
9	1.222	0.746	0.1E-4	0.1E-2	0.8E-5	116.4	1.215	269.0	13.3	0.060	16.1
10	2.622	1.210	0.6E-1	0.4E-1	0.9E-5	99.43	1.762	283.8	8.10	0.050	14.2
11	2.951	1.368	0.105	0.210	0.5E-6	91.13	1.362	280.0	10.48	0.051	14.2
12	1.219	0.892	0.120	0.4E-1	0.7E-6	76.50	1.288	279.7	10.27	0.047	13.2
X	2.06	1.01	0.101	0.082	8.5E-6	129.6	1.28	275.0	12.03	0.054	14.9
σ _{n-1}	0.71	0.24	0.116	0.096	4.9E-6	80.75	0.26	6.82	2.85	0.005	1.20
C.V%	34.7	23.6	114.9	117.8	58.2	62.34	20.59	2.4	23.7	9.5	7.9

Tabla. 16. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo II (global). Pacientes insuficientes renales diabéticos.

ANEXO I

IN	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₄ (h-1)	K ₄₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
1	1.478	1.016	0.167	1.4E-7	71.83	1.077	279.8	13.4	0.051	14.4
2	2.084	1.011	3.8E-4	8.1E-6	112.1	1.594	277.3	8.24	0.047	13.2
3	2.840	1.028	0.198	7.6E-6	103.4	1.415	278.1	10.8	0.055	15.3
4	2.678	1.418	1.0E-3	9.1E-6	127.8	1.279	272.5	12.0	0.056	15.4
5	3.491	1.513	0.508	5.5E-6	101.1	1.625	247.0	9.04	0.059	14.78
6	2.458	1.138	0.130	3.9E-6	130.5	0.732	280.1	17.7	0.047	13.03
- X	2.50	1.18	0.167	5.7E-6	107.7	1.28	272.4	11.88	0.052	14.3
σ n-1	0.68	0.22	0.18	3.3E-6	21.40	0.34	12.7	3.43	0.005	1.03
C.V%	27.4	18.7	111.7	57.81	19.8	26.5	4.7	28.9	9.5	7.2

Tabla. 17. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo II (reducido). Pacientes insuficientes renales no diabéticos.

IN	K ₁₂ (h-1)	K ₂₁ (h-1)	K ₁₄ (h-1)	K ₄₁ (h-1)	K ₃₀ (h-1)	K ₁₃ (h-1)	K ₃₁ (h-1)	V ₁ (l)	V ₃ (l)	Q _p (l/h)
7	2.233	0.823	2.3E-5	2.4E-5	292.7	1.044	269.4	14.6	0.056	15.3
8	2.165	1.067	0.521	6.5E-6	102.46	1.054	269.2	15.4	0.060	16.2
9	1.223	0.746	1.9E-6	9.3E-6	116.8	1.216	269.0	13.3	0.060	16.2
10	2.634	1.209	0.105	7.9E-6	99.96	1.764	269.4	8.09	0.053	14.3
11	2.955	1.369	0.316	7.2E-6	91.16	1.363	280.0	10.4	0.051	14.28
12	1.213	0.887	0.163	8.1E-6	76.48	1.287	279.7	10.2	0.047	13.23
- X	2.077	1.016	0.184	1.0E-5	129.9	1.2882	272.8	12.03	0.054	14.9
σ n-1	0.71	0.24	0.20	6.7E-6	80.84	0.26	5.57	2.8	0.005	1.2
C.V%	34.7	23.7	110.2	63.81	62.2	20.6	2.0	23.6	9.5	7.9

Tabla. 18. Parámetros farmacocinéticos correspondientes al ajuste realizado de acuerdo al modelo II (reducido). Pacientes insuficientes renales diabéticos.

ANEXO I

<u>INDIVIDUO</u>	<u>Fexp.</u>	<u>Ftab.</u>	δ 1	δ 2	<u>SIGNIFICACION</u>
1	0.061	5.59	1	7	N.S
2	0.1746	5.59	1	7	N.S
3	0.2756	5.59	1	7	N.S
4	0.2925	5.59	1	7	N.S
5	0.3252	5.59	1	7	N.S
6	0.0158	5.59	1	7	N.S
7	0.0372	6.61	1	5	N.S
8	0.0360	5.59	1	7	N.S
9	0.0601	5.59	1	7	N.S
10	0.0830	5.59	1	7	N.S
11	0.0086	5.59	1	7	N.S
12	0.0492	5.59	1	7	N.S

Tabla. 19. Aplicación del test F para contrastar un modelo global y un modelo reducido (modelo II).

INDIVIDUO 1

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.18 \cdot e^{-352.52 \cdot t} + 53.12 \cdot e^{-2.727 \cdot t} + 26.72 \cdot e^{-0.147 \cdot t} + 8.2 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-5 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-6} \cdot t \\
 X_2 &= -75.2 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-352.52 \cdot t} - 45.5 \cdot e^{-2.727 \cdot t} + 45.5 \cdot e^{-0.147 \cdot t} + 12 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-5 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-6} \cdot t \\
 X_3 &= -0.22 \cdot e^{-352.52 \cdot t} + 0.16 \cdot e^{-2.727 \cdot t} + 0.06 \cdot e^{-0.147 \cdot t} + 3.2 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-5 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-6} \cdot t \\
 X_4 &= -82.4 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-352.52 \cdot t} - 3.1 \cdot e^{-2.727 \cdot t} - 29 \cdot e^{-0.147 \cdot t} + 32.7 \cdot e^{-5 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-6} \cdot t
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	60.43	15.03	0.169	2.38
0.33	47.05	24.85	0.128	3.82
0.50	38.41	30.65	0.102	4.97
0.83	29.17	35.55	0.075	6.72
1.33	23.38	36.22	0.058	8.78
3	17.20	29.273	0.042	14.06
5	12.81	21.82	0.031	18.81

Tabla. 20. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 1.

ANEXO I

INDIVIDUO 2

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.23 \cdot e^{-390.54 \cdot t} + 58.40 \cdot e^{-3.40 \cdot t} + 21.36 \cdot e^{-0.135 \cdot t} + 16 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.8 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_2 &= -124 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-390.54 \cdot t} - 50.7 \cdot e^{-3.40 \cdot t} + 50.7 \cdot e^{-0.135 \cdot t} + 12 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.8 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_3 &= -0.32 \cdot e^{-390.54 \cdot t} + 0.24 \cdot e^{-3.40 \cdot t} + 0.08 \cdot e^{-0.135 \cdot t} + 72 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.8 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_4 &= -3 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-390.54 \cdot t} - 53 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-3.40 \cdot t} - 48 \cdot 10^{-3} \cdot e^{-0.135 \cdot t} + 53 \cdot 10^{-3} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.8 \cdot 10^{-5} \cdot t
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	54.80	20.19	0.224	0.003
0.33	39.45	31.99	0.161	0.005
0.50	30.64	38.14	0.125	0.007
0.83	22.57	42.32	0.092	0.010
1.33	18.48	41.83	0.076	0.013
3	14.25	33.82	0.060	0.021
5	10.88	25.82	0.047	0.028

Tabla. 21. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 2.

INDIVIDUO 3

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.21 \cdot e^{-382.53 \cdot t} + 62.88 \cdot e^{-4.29 \cdot t} + 16.96 \cdot e^{-0.137 \cdot t} + 81 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.4 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -16 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-382.53 \cdot t} - 54.8 \cdot e^{-4.29 \cdot t} + 54.8 \cdot e^{-0.137 \cdot t} + 8.8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-0.4 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -0.29 \cdot e^{-382.53 \cdot t} + 0.23 \cdot e^{-4.29 \cdot t} + 0.06 \cdot e^{-0.137 \cdot t} + 1.2 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-0.4 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -10.8 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-382.53 \cdot t} - 2.7 \cdot e^{-4.29 \cdot t} - 23.3 \cdot e^{-0.137 \cdot t} + 26.21 \cdot e^{-0.4 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	48.24	26.06	0.179	1.99
0.33	31.47	39.13	0.116	3.24
0.50	23.19	44.82	0.085	4.10
0.83	16.92	47.42	0.062	5.31
1.33	14.34	45.55	0.052	6.76
3	11.24	36.38	0.041	10.74
5	8.54	27.66	0.031	14.45

Tabla. 22. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 3.

ANEXO I

INDIVIDUO 4

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.17 \cdot e^{-401.23 \cdot t} + 55.68 \cdot e^{-4.35 \cdot t} + 24.16 \cdot e^{-0.134 \cdot t} + 4.4 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-0.9 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_2 &= -11.6 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-401.23 \cdot t} - 50.4 \cdot e^{-4.35 \cdot t} + 50.4 \cdot e^{-0.134 \cdot t} + 1.2 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.9 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_3 &= -25.5 \cdot e^{-401.23 \cdot t} + 0.17 \cdot e^{-4.35 \cdot t} + 0.07 \cdot e^{-0.134 \cdot t} + 1.6 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-0.9 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_4 &= -5 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-401.23 \cdot t} - 10.3 \cdot 10^{-3} \cdot e^{-4.35 \cdot t} - 0.1 \cdot e^{-0.134 \cdot t} + 0.19 \cdot e^{-0.9 \cdot 10^{-5} \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	51.41	24.24	0.163	0.0236
0.33	36.36	36.28	0.115	0.0230
0.50	28.92	41.47	0.091	0.0352
0.83	23.11	46.52	0.073	0.0435
1.33	20.38	42.07	0.064	0.0541
3	16.16	33.77	0.051	0.0843
5	12.36	25.83	0.039	0.1126

Tabla. 23. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 4.

INDIVIDUO 5

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.26 \cdot e^{-349.66 \cdot t} + 61.44 \cdot e^{-5.71 \cdot t} + 18.32 \cdot e^{-0.259 \cdot t} + 6 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-0.2 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_2 &= -26.8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-349.66 \cdot t} - 51 \cdot e^{-5.71 \cdot t} + 51 \cdot e^{-0.259 \cdot t} + 76 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.2 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_3 &= -37.5 \cdot e^{-349.66 \cdot t} + 0.29 \cdot e^{-5.71 \cdot t} + 0.08 \cdot e^{-0.259 \cdot t} + 12 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-0.2 \cdot 10^{-5} \cdot t} \\
 X_4 &= -38.4 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-349.66 \cdot t} - 5.3 \cdot e^{-5.71 \cdot t} - 35.3 \cdot e^{-0.259 \cdot t} + 39 \cdot e^{-0.2 \cdot 10^{-5} \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	42.21	28.49	0.197	3.2856
0.33	26.15	39.10	0.121	6.082
0.50	19.63	41.90	0.091	7.986
0.83	15.31	40.72	0.070	10.792
1.33	13.02	36.14	0.060	14.301
3	8.42	23.46	0.038	23.101
5	6.79	18.92	0.031	26.246

Tabla. 24. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 5.

ANEXO I

INDIVIDUO 6

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.098 \cdot e^{-58t} - 411.17 \cdot e^{-3.84t} + 21.84 \cdot e^{-0.109t} + 23 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.1t} \\
 X_2 &= -58 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-411.17t} - 52.4 \cdot e^{-3.84t} + 52.4 \cdot e^{-0.109t} + 51 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.1t} \\
 X_3 &= -0.14 \cdot e^{-411.17t} + 0.10 \cdot e^{-3.84t} + 0.03 \cdot e^{-0.109t} + 4.6 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-0.1t} \\
 X_4 &= -30.9 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-411.17t} - 19 \cdot e^{-3.84t} - 26.8 \cdot e^{-0.109t} + 28 \cdot e^{-0.1t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	52.83	23.18	0.094	1.43
0.33	37.40	35.84	0.066	2.42
0.50	29.18	42.00	0.052	3.17
0.83	22.34	45.77	0.039	4.27
1.33	19.24	45.07	0.034	5.64
3	15.74	37.84	0.028	9.51
5	12.66	30.42	0.022	13.29

Tabla. 25. Ecuaciones que definen X₁, X₂, X₃ y X₄, su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 6.

INDIVIDUO 7

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.071 \cdot e^{-562.62 \cdot t} + 63.36 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 16.56 \cdot e^{-0.128 \cdot t} + 8.8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-3 \cdot 0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -27.4 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-562.62 \cdot t} - 53.4 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 53.4 \cdot e^{-0.128 \cdot t} + 32 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-5 \cdot 0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -0.14 \cdot e^{-562.62 \cdot t} + 0.11 \cdot e^{-3.46 \cdot t} + 0.03 \cdot e^{-0.128 \cdot t} + 8 \cdot 10^{-8} \cdot e^{-0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -10 \cdot e^{-7 \cdot 562.62 \cdot t} - 51 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-5 \cdot 3.46 \cdot t} - 32 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-5 \cdot 0.128 \cdot t} + 8 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-4 \cdot 0.2 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	52.65	21.37	0.096	$2 \cdot 10^{-4}$
0.33	35.95	33.72	0.066	$3 \cdot 10^{-4}$
0.50	26.61	40.24	0.049	$4 \cdot 10^{-4}$
0.83	18.29	44.56	0.033	$5 \cdot 10^{-4}$
1.33	14.55	44.35	0.026	$5 \cdot 10^{-4}$
3	11.26	36.33	0.020	$6 \cdot 10^{-4}$
5	8.61	27.78	0.015	$6 \cdot 10^{-4}$

Tabla. 26. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 7.

ANEXO I

INDIVIDUO 8

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.16 \cdot e^{-372.36 \cdot t} + 61.28 \cdot e^{-3.80 \cdot t} + 18.56 \cdot e^{-0.228 \cdot t} + 58 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -9.6 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-372.36 \cdot t} - 48.1 \cdot e^{-3.80 \cdot t} + 48.1 \cdot e^{-0.228 \cdot t} + 68 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -22 \cdot 10^{-2} \cdot e^{-372.36 \cdot t} + 0.17 \cdot e^{-3.80 \cdot t} + 0.05 \cdot e^{-0.228 \cdot t} + 1.110 \cdot e^{-0.2 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -23 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-372.36 \cdot t} - 8.3 \cdot e^{-3.80 \cdot t} - 42.4 \cdot e^{-0.228 \cdot t} + 51.6 \cdot e^{-0.2 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	51.25	20.22	0.144	6.37
0.33	34.70	30.82	0.097	10.24
0.50	25.72	36.12	0.071	12.64
0.83	17.97	37.56	0.050	16.49
1.33	14.09	34.86	0.039	20.54
3	9.36	24.27	0.026	30.22

Tabla. 27. Ecuaciones que definen X₁, X₂, X₃ y X₄, su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 8.

INDIVIDUO 9

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.176 \cdot e^{-386.64 \cdot t} + 56.08 \cdot e^{-2.20 \cdot t} + 23.68 \cdot e^{-0.123 \cdot t} + 6.4 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-8 \cdot 0.9 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -54.8 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-386.64 \cdot t} - 46.8 \cdot e^{-2.20 \cdot t} + 46.8 \cdot e^{-0.123 \cdot t} + 5.4 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-9 \cdot 0.9 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -25.1 \cdot e^{-386.64 \cdot t} + 0.17 \cdot e^{-2.20 \cdot t} + 0.07 \cdot e^{-0.123 \cdot t} + 2.1 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-10 \cdot 0.9 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -10 \cdot e^{-8 \cdot 386.64 \cdot t} - 42.60 \cdot e^{-5 \cdot 2.20 \cdot t} - 22.11 \cdot e^{-5 \cdot 0.123 \cdot t} + 6 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-4 \cdot 0.9 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	62.65	12.98	0.197	1 · 10 ⁻⁴
0.33	49.87	23.36	0.153	2 · 10 ⁻⁴
0.50	40.93	28.50	0.127	2.7 · 10 ⁻⁴
0.83	30.41	34.73	0.095	3.5 · 10 ⁻⁴
1.33	23.11	37.31	0.072	4 · 10 ⁻⁴
3	16.44	32.32	0.051	4.6 · 10 ⁻⁴
5	12.80	25.34	0.040	5 · 10 ⁻⁴

Tabla. 28. Ecuaciones que definen X₁, X₂, X₃ y X₄, su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 9.

ANEXO I

INDIVIDUO 10

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.28 \cdot e^{-370.68 \cdot t} + 59.44 \cdot e^{-4.24 \cdot t} + 20.24 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 95 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -19.9 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-370.68 \cdot t} - 51.4 \cdot e^{-4.24 \cdot t} + 51.4 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 84 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -0.380 \cdot e^{-370.68 \cdot t} + 0.28 \cdot e^{-4.24 \cdot t} + 0.09 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 73 \cdot 10^{-8} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -75 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-370.68 \cdot t} - 1.4 \cdot e^{-4.24 \cdot t} - 12.2 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 13.9 \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	49.87	24.33	0.237	1.289
0.33	33.79	36.05	0.162	1.950
0.50	25.77	41.15	0.123	2.457
0.83	19.41	43.36	0.092	3.184
1.33	16.46	41.10	0.078	4.077
3	12.33	31.32	0.058	6.444
5	8.86	22.53	0.042	8.537

Tabla. 29. Ecuaciones que definen X₁, X₂, X₃ y X₄, su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 10.

INDIVIDUO 11

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.22 \cdot e^{-372.19 \cdot t} + 59.36 \cdot e^{-4.77 \cdot t} + 20.40 \cdot e^{-0.186 \cdot t} + 68 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.3 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -17.7 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-372.19 \cdot t} - 51.3 \cdot e^{-4.77 \cdot t} + 51.3 \cdot e^{-0.186 \cdot t} + 91 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.3 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -0.29 \cdot e^{-372.19 \cdot t} + 0.22 \cdot e^{-4.77 \cdot t} + 0.07 \cdot e^{-0.186 \cdot t} + 15 \cdot 10^{-7} \cdot e^{-0.3 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -18 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-372.19 \cdot t} - 3.8 \cdot e^{-4.77 \cdot t} - 35.6 \cdot e^{-0.186 \cdot t} + 39.3 \cdot e^{-0.3 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	47.47	25.88	0.174	2.919
0.33	31.46	37.64	0.115	4.952
0.50	24.04	42.06	0.088	6.430
0.83	18.61	42.98	0.068	8.709
1.33	16.03	40.00	0.058	11.454
3	11.67	29.37	0.042	18.910
5	8.48	20.23	0.029	25.262

Tabla. 30. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 11.

ANEXO I

INDIVIDUO 12

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.22 \cdot e^{-357.19 \cdot t} + 53.84 \cdot e^{-2.36 \cdot t} + 25.92 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 83 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_2 &= -76.0 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-357.19 \cdot t} - 43.8 \cdot e^{-2.36 \cdot t} + 43.8 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 99 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_3 &= -0.28 \cdot e^{-357.19 \cdot t} + 0.19 \cdot e^{-2.36 \cdot t} + 0.09 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 18 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t} \\
 X_4 &= -16 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-357.19 \cdot t} - 0.03 \cdot e^{-2.36 \cdot t} - 25.1 \cdot e^{-0.165 \cdot t} + 29.4 \cdot e^{-0.5 \cdot 10 \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X ₁ (mg)	X ₂ (mg)	X ₃ (mg)	X ₄ (mg)
0.16	61.83	12.84	0.222	2.552
0.33	49.25	21.78	0.175	4.043
0.50	40.41	27.21	0.143	5.223
0.83	30.19	31.95	0.108	7.095
1.33	23.14	37.04	0.082	9.1424
3	15.84	26.66	0.056	14.174
5	11.35	19.20	0.040	18.475

Tabla. 31. Ecuaciones que definen X₁, X₂, X₃ y X₄, su evolución en el tiempo, correspondientes al individuo 12.

VALORES MEDIOS NO DIABETICOS

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.196 \cdot e^{-381.02 \cdot t} + 58.72 \cdot e^{-4.04 \cdot t} + 21.04 \cdot e^{-0.152 \cdot t} + 6.7 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.3 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_2 &= -1.28 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-3 \cdot t} - 381.02 \cdot t - 51.2 \cdot e^{-4.04 \cdot t} + 51.2 \cdot e^{-0.152 \cdot t} + 5.9 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.3 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_3 &= -0.27 \cdot e^{-389.02 \cdot t} + 0.19 \cdot e^{-4.04 \cdot t} + 0.07 \cdot e^{-0.152 \cdot t} + 5.2 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-7 \cdot t} - 0.3 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_4 &= -8.5 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-5 \cdot t} - 381.02 \cdot t - 2.4 \cdot e^{-4.04 \cdot t} - 23.11 \cdot e^{-0.152 \cdot t} + 25.52 \cdot e^{-0.3 \cdot 10^{-5} \cdot t}
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	51.29	23.17	0.173	1.72
0.33	35.49	35.28	0.119	2.89
0.50	27.28	40.71	0.092	5.03
0.83	20.59	43.63	0.068	5.07
1.33	17.46	41.63	0.058	6.64
3	13.33	32.46	0.044	10.88
5	9.83	23.94	0.033	14.72

Tabla. 32. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, determinadas a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los pacientes insuficientes renales no diabéticos.

ANEXO I

VALORES MEDIOS DIABETICOS

$$\begin{aligned}
 X_1 &= 0.176 \cdot e^{-403.57 \cdot t} + 59.68 \cdot e^{-3.51 \cdot t} + 20.16 \cdot e^{-0.174 \cdot t} + 1.4 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-3 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_2 &= -9.04 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-403.57 \cdot t} - 49.5 \cdot e^{-3.51 \cdot t} + 49.5 \cdot e^{-0.174 \cdot t} + 8.2 \cdot 10^{-4} \cdot e^{-4 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_3 &= -0.25 \cdot e^{-403.57 \cdot t} + 0.19 \cdot e^{-3.51 \cdot t} + 0.06 \cdot e^{-0.174 \cdot t} + 1.2 \cdot 10^{-6} \cdot e^{-6 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-5} \cdot t \\
 X_4 &= -8.0 \cdot 10^{-5} \cdot e^{-403.57 \cdot t} - 3.1 \cdot e^{-3.51 \cdot t} - 21.28 \cdot e^{-0.174 \cdot t} + 24.42 \cdot e^{-5 \cdot t} - 0.6 \cdot 10^{-5} \cdot t
 \end{aligned}$$

t (h)	X 1 (mg)	X 2 (mg)	X 3 (mg)	X 4 (mg)
0.16	53.61	18.93	0.173	1.93
0.33	37.77	31.19	0.123	3.32
0.50	28.79	36.84	0.094	4.36
0.83	20.68	40.16	0.068	5.81
1.33	16.55	38.80	0.054	7.48
3	11.96	29.36	0.039	11.77
5	8.44	20.69	0.028	15.49

Tabla. 33. Ecuaciones que definen X_1 , X_2 , X_3 y X_4 , su evolución en el tiempo, determinadas a partir de las medias aritméticas de los parámetros estimados para los pacientes insuficientes renales diabéticos.

IND.	AUC_0^{∞} (mg.h)		X(F)
	(1)	(2)	
1	338.5	492.9	75.90
2	375.7	516.0	77.04
3	312.0	575.0	79.23
4	193.5	389.1	80.35
5	331.4	507.1	82.80
6	340.5	494.9	78.18
7	337.5	418.9	81.07
8	362.9	508.8	79.51
9	218.0	402.0	79.84
10	301.6	445.0	77.25
11	306.1	511.8	78.65
12	343.3	441.8	77.20

Tabla. 34. Valores de AUC_0^{∞} correspondientes a los compartimentos 1 y 2 y cantidad de gentamicina que se eliminaría por depuración artificial $X_{(f)}$

ANEXO I

IND.	AUC_0^t (mg·h)		
	(1)	(2)	(4)
1	143.9	109.4	59.23
2	89.85	169.1	0.090
3	70.86	185.6	45.63
4	95.61	173.2	0.360
5	50.14	115.1	63.34
6	94.06	188.1	40.09
7	74.10	180.3	0.030
8	51.35	91.28	60.33
9	109.70	152.83	0.002
10	77.82	163.0	27.26
11	73.76	136.5	78.93
12	106.7	114.1	59.76

Tabla. 35. Valores de AUC_0^t correspondientes a los compartimentos 1, 2 y 4 .

IND.	\int_0^t AUC (mg·h)	
	(1N)	(2N)
1	111.0	84.44
2	77.04	145.0
3	52.64	137.9
4	96.97	175.7
5	40.68	93.41
6	67.18	134.4
7	80.66	196.3
8	47.09	83.20
9	79.76	111.12
10	64.03	134.14
11	48.89	90.89
12	89.95	96.24

Tabla. 36. Valores de áreas parciales normalizadas correspondientes a los compartimentos 1 y 2.

INDIVIDUO 2.- NO DIABETICO
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT AL MODELO I

```

1:      SUBROUTINE DIFFEQ(T,X,XP)
2:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
3:      COMMON /PARAMD/ P
4:      COMMON /INPUT/ R,B
5:      DIMENSION X(20),XP(20),P(40),R(20),B(20)
6:  CC
7:      R(1)=13.2/P(1)
8:      R(2)=R(1)+P(2)+P(3)
9:      R(3)=277.31+P(5)
10:     XP(1)=-R(2)*X(1)+P(4)*X(2)+277.31*X(3)
11:     XP(2)=P(2)*X(1)-P(4)*X(2)
12:     XP(3)=R(1)*X(1)-R(3)*X(3)
13:  CC
14:     RETURN
15:     END
16:
17:  C
18:     SUBROUTINE OUTPUT(Y,T)
19:     IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
20:     COMMON /PARAMD/ P
21:     COMMON /STATE/ X
22:     COMMON /INPUT/ R,B
23:     DIMENSION X(20),P(40),Y(150),R(20),B(20)
24:  *CC

25:     Y(1)=X(1)/P(1)
26:     Y(2)=X(3)/0.0476
27:  CC
28:     RETURN
29:     END
30:  C
31:  C
32:     SUBROUTINE SYMBOL
33:     IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
34:     CHARACTER PSYM(40)*10
35:     COMMON /CNST/ N,ND,NI,NUP,NUIC,NP
36:     COMMON /PSYMB/ PSYM
37:  CC
38:     N=3
39:     NP=5
40:  CC
41:     PSYM(1)= 'V1'
42:     PSYM(2)= 'K12'
43:     PSYM(3)= 'K10'
44:     PSYM(4)= 'K21'
45:     PSYM(5)= 'K30'
46:  CC
47:     RETURN
48:  *  END

```

ANEXO Ia

FITTED PARAMETERS

V1 = 8.2804
 K12 = 2.0894
 K10 = 0.54128E-03
 K14 = 0.18332E-03
 K21 = 1.0133
 K41 = 0.16307E-04
 K30 = 112.04
 IFLAG= 4

FINAL SUM OF SQUARES= 0.1211019

---C. DATA SUMMARY ---

YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES 1

IFLAG= 4

1) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	6.582	6.604	0.2147E-01	1.000
2	0.3300	4.906	4.746	-0.1601	1.000
3	0.5000	3.506	3.683	0.1767	1.000
4	0.8300	2.842	2.714	-0.1286	1.000
5	1.330	2.118	2.224	0.1057	1.000
6	3.000	1.717	1.714	-0.3761E-02	1.000
7	5.000	1.259	1.306	0.4696E-01	1.000

2) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	4.704	4.730	0.2543E-01	1.000
2	0.3300	3.426	3.395	-0.3090E-01	1.000
3	0.5000	2.506	2.632	0.1259	1.000
4	0.8300	2.031	1.936	-0.9522E-01	1.000
5	1.330	1.579	1.585	0.6012E-02	1.000
6	3.000	1.277	1.221	-0.5641E-01	1.000
7	5.000	0.9949	0.9305	-0.6439E-01	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL(95%)
V1	8.280	8.875	[6.542 , 10.02]
K12	2.089	20.69	[1.067 , 3.112]
K10	0.5413E-03	238.7	[-0.2515E-02, 0.3597E-02]
K14	0.1833E-03	63.46	[-0.9179E-04, 0.4584E-03]
K21	1.013	24.32	[0.4306 , 1.596]
K41	0.1631E-04	1383.	[-0.5171E-03, 0.5497E-03]
K30	112.0	13.92	[75.16 , 148.9]

INDIVIDUO 2.- NO DIABETICO
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT AL MODELO II

```

1:      SUBROUTINE DIFFEQ(T,X,XP)
2:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
3:      COMMON /PARAMD/ P
4:      COMMON /INPUT/ R,B
5:      DIMENSION X(20),XP(20),P(40),R(20),B(20)
6: CC
7: CC   MODELO 4-compartmentos I.V. 14/2/91
8:      R(1)=13.2/P(1)
9:      R(2)=R(1)+P(2)+P(3)+P(4)
10:     R(3)=277.31+P(7)
11:     XP(1)=-R(2)*X(1)+P(5)*X(2)+277.31*X(3)+P(6)*X(4)
12:     XP(2)=P(2)*X(1)-P(5)*X(2)
13:     XP(3)=R(1)*X(1)-R(3)*X(3)
14:     XP(4)=P(4)*X(1)-P(6)*X(4)
15: CC
16:      RETURN
17:      END
18: C
19: C
20:      SUBROUTINE OUTPUT(Y,T)
21:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
22:      COMMON /PARAMD/ P
23:      COMMON /STATE/ X
24:*    COMMON /INPUT/ R,B

25:      DIMENSION X(20),P(40),Y(150),R(20),B(20)
26: CC
27:      Y(1)=X(1)/P(1)
28:      Y(2)=X(3)/0.0476
29: CC
30:      RETURN
31:      END
32: C
33: C
34:      SUBROUTINE SYMBOL
35:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
36:      CHARACTER PSYM(40)*10
37:      COMMON /CNST/ N,ND,NI,NUP,NUIC,NP
38:      COMMON /PSYMB/ PSYM
39: CC
40:      N=4
41:      NP=7
42: CC
43:      PSYM(1)='V1'
44:      PSYM(2)='K12'
45:      PSYM(3)='K10'
46:      PSYM(4)='K14'
47:      PSYM(5)='K21'
48:*    PSYM(6)='K41'

49:      PSYM(7)='K30'
50: CC
51:      RETURN
52:*    END

```

ANEXO Ia

FITTED PARAMETERS

V1 = 8.2852
 K12 = 2.0871
 K10 = 0.46787E-03
 K21 = 1.0117
 K30 = 112.05

FINAL SUM OF SQUARES= 0.1210737

---C. DATA SUMMARY ---

YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES 1

1) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	6.582	6.602	0.2003E-01	1.000
2	0.3300	4.906	4.746	-0.1602	1.000
3	0.5000	3.506	3.683	0.1766	1.000
4	0.8300	2.842	2.713	-0.1292	1.000
5	1.330	2.118	2.223	0.1045	1.000
6	3.000	1.717	1.713	-0.4378E-02	1.000
7	5.000	1.259	1.306	0.4700E-01	1.000

2) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	4.704	4.729	0.2433E-01	1.000
2	0.3300	3.426	3.395	-0.3104E-01	1.000
3	0.5000	2.506	2.632	0.1258	1.000
4	0.8300	2.031	1.936	-0.9575E-01	1.000
5	1.330	1.579	1.584	0.5317E-02	1.000
6	3.000	1.277	1.220	-0.5691E-01	1.000
7	5.000	0.9949	0.9306	-0.6432E-01	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

OUTPUT	DEGREES OF FREEDOM	ERROR VARIANCE	COEFF. OF DETERMINATION
Y(1)	2	0.4356E-01	0.996
Y(2)	2	0.1697E-01	0.997

PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL(95%)
V1	8.285	1.493	{ 8.005 , 8.565 }
K12	2.087	5.128	{ 1.845 , 2.329 }
K10	0.4679E-03	7.517	{ 0.3883E-03, 0.5474E-03 }
K21	1.012	2.693	{ 0.9501 , 1.073 }
K30	112.0	8.020	{ 91.72 , 132.4 }

INDIVIDUO 8.- DIABETICO
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT AL MODELO I

```

1:      SUBROUTINE DIFFEQ(T,X,XP)
2:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
3:      COMMON /PARAMD/ P
4:      COMMON /INPUT/ R,B
5:      DIMENSION X(20),XP(20),P(40),R(20),B(20)
6: CC
7:      R(1)=16.21/P(1)
8:      R(2)=R(1)+P(2)+P(3)
9:      R(3)=269.3+P(5)
10:     XP(1)=-R(2)*X(1)+P(4)*X(2)+269.3*X(3)
11:     XP(2)=P(2)*X(1)-P(4)*X(2)
12:     XP(3)=R(1)*X(1)-R(3)*X(3)
13: CC
14:      RETURN
15:      END
16:
17: C
18:      SUBROUTINE OUTPUT(Y,T)
19:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
20: *      COMMON /PARAMD/ P

22:      COMMON /INPUT/ R,B
23:      DIMENSION X(20),P(40),Y(150),R(20),B(20)
24: CC
25:      Y(1)=X(1)/P(1)
26:      Y(2)=X(3)/0.0602
27: CC
28:      RETURN
29:      END
30: C
31: C
32:      SUBROUTINE SYMBOL
33:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
34:      CHARACTER PSYM(40)*10
35:      COMMON /CNST/ N,ND,NI,NUP,NUIC,NP
36:      COMMON /PSYMB/ PSYM
37: CC
38:      N=3
39:      NP=5
40: CC
41:      PSYM(1)= 'V1'
42:      PSYM(2)= 'K12'
43:      PSYM(3)= 'K10'
44:      PSYM(4)= 'K21'
45: *      PSYM(5)= 'K30'

45:      PSYM(5)= 'K30'
46: CC
47:      RETURN
48:      END
49: *

```

ANEXO Ia

FITTED PARAMETERS

V1 = 15.397
 K12 = 2.1600
 K10 = 0.52356
 K21 = 1.0705
 K30 = 102.36

FINAL SUM OF SQUARES= 0.1553749E-01

---C. DATA SUMMARY ---

) YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

---C. DATA SUMMARY ---

) YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES 1

1) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	3.320	3.331	0.1146E-01	1.000
2	0.3300	2.302	2.259	-0.4259E-01	1.000
3	0.5000	1.596	1.678	0.8256E-01	1.000
4	0.8300	1.228	1.177	-0.5127E-01	1.000
5	1.330	0.9455	0.9254	-0.2014E-01	1.000
6	3.000	0.6221	0.6152	-0.6913E-02	1.000

(2) OBS.NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	2.425	2.430	0.4981E-02	1.000
2	0.3300	1.681	1.646	-0.3576E-01	1.000
3	0.5000	1.228	1.221	-0.7538E-02	1.000
4	0.8300	0.8111	0.8544	0.4335E-01	1.000
5	1.330	0.6555	0.6709	0.1536E-01	1.000
6	3.000	0.4312	0.4460	0.1477E-01	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

) YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

OUTPUT	DEGREES OF FREEDOM	ERROR VARIANCE	COEFF. OF DETERMINATION
Y(1)	1	0.1184E-01	0.998
Y(2)	1	0.3694E-02	0.999

PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL(95%)
V1	15.40	3.074	[14.28 , 16.52]
K12	2.160	5.459	[1.881 , 2.439]
K10	0.5236	41.48	[0.9926E-02 , 1.037]
K21	1.071	27.53	[0.3736 , 1.767]
K30	102.4	7.427	[84.38 , 120.3]

INDIVIDUO 8.- DIABETICO
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT AL MODELO II

```

1:      SUBROUTINE DIFFEQ(T,X,XP)
2:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
3:      COMMON /PARAMD/ P
4:      COMMON /INPUT/ R,E
5:      DIMENSION X(20),XP(20),P(40),R(20),B(20)
6: CC
7: CC  MODELO 4-compartmentos I.V. 14/2/91
8:      R(1)=16.21/P(1)
9:      R(2)=R(1)+P(2)+P(3)+P(4)
10:     R(3)=269.3+P(7)
11:     XP(1)=-R(2)*X(1)+P(5)*X(2)+269.3*X(3)+P(6)*X(4)
12:     XP(2)=P(2)*X(1)-P(5)*X(2)
13:     XP(3)=R(1)*X(1)-R(3)*X(3)
14:     XP(4)=P(4)*X(1)-P(6)*X(4)
15: CC
16:      RETURN
17:      END
18: C
19: C
20:      SUBROUTINE OUTPUT(Y,T)
21:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
22:      COMMON /PARAMD/ P
23:      COMMON /STATE/ X
24: *      COMMON /INPUT/ R,E

25:      DIMENSION X(20),P(40),Y(150),R(20),B(20)
26: CC
27:      Y(1)=X(1)/P(1)
28:      Y(2)=X(3)/0.0602
29: CC
30:      RETURN
31:      END
32: C
33: C
34:      SUBROUTINE SYMBOL
35:      IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
36:      CHARACTER PSYM(40)*10
37:      COMMON /CNST/ N,ND,NI,NUP,NUIC,NP
38:      COMMON /PSYMB/ PSYM
39: CC
40:      N=4
41:      NP=7
42: CC
43:      PSYM(1)='V1'
44:      PSYM(2)='K12'
45:      PSYM(3)='K10'
46:      PSYM(4)='K14'
47:      PSYM(5)='K21'
48: *      PSYM(6)='K41'

49:      PSYM(7)='K30'
50: CC
51:      RETURN
52: *      END

```

ANEXO Ia

FITTED PARAMETERS

V1 = 15.405
 K12 = 2.1606
 K10 = 0.31671
 K14 = 0.20066
 K21 = 1.0598
 K41 = 0.89435E-05
 K30 = 102.22

FINAL SUM OF SQUARES= 0.1553325E-01

---C. DATA SUMMARY ---

DU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

---C. DATA SUMMARY ---

DU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES 1

OBS. NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	3.320	3.332	0.1202E-01	1.000
2	0.3300	2.302	2.259	-0.4215E-01	1.000
3	0.5000	1.596	1.678	0.8209E-01	1.000
4	0.8300	1.228	1.175	-0.5292E-01	1.000
5	1.330	0.9455	0.9240	-0.2151E-01	1.000
6	3.000	0.6221	0.6173	-0.4756E-02	1.000

OBS. NUM.	TIME	OBSERVATION	MODEL EST.	RESIDUAL	WEIGHTS
1	0.1600	2.425	2.432	0.6271E-02	1.000
2	0.3300	1.681	1.647	-0.3479E-01	1.000
3	0.5000	1.228	1.221	-0.7359E-02	1.000
4	0.8300	0.8111	0.8535	0.4241E-01	1.000
5	1.330	0.6555	0.6701	0.1460E-01	1.000
6	3.000	0.4312	0.4477	0.1649E-01	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL(95%)
V1	15.40	6.987	[12.64 , 18.17]
K12	2.161	11.54	[1.520 , 2.802]
K10	0.3167	9.700	[0.2377 , 0.3957]
K14	0.2007	110.2	[-0.3681 , 0.7694]
K21	1.060	33.73	[0.1408 , 1.979]
K41	0.8943E-05	593.3	[-0.1275E-03 , 0.1454E-03]
K30	102.2	9.978	[76.00 , 128.4]

III. EL CALCIO EN LA PREVENCION DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA
POR GENTAMICINA. ESTUDIO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACION



RESULTADOS Y DISCUSION

Uno de los aspectos más importantes en el desarrollo de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, es el posible papel preventivo que pueda jugar el calcio. En la bibliografía estudiada por nosotros y recogida en el Introducción de esta Memoria se mantiene la duda de si la acción del Ca^{++} es directa, interfiriendo la unión entre la gentamicina y los fosfolípidos de membrana y , por tanto, disminuyendo el daño renal, o por el contrario, es indirecta y el papel preventivo lo protagoniza la PTH.

Ambos aspectos están relacionados entre si de la siguiente forma:

- 1.- Niveles elevados de calcio producen una disminución en la PTH.
- 2.- La estimulación de la PTH induciría formación de fosfolípidos y, por tanto, potenciaría la nefrotoxicidad.

En cualquier caso, ya sea directa o indirectamente, si cabe suponer que un aporte elevado de calcio pueda disminuir la incidencia de fallo renal agudo producido por la administración reiterada de gentamicina.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con este razonamiento, y aceptando que la simple presencia de calcio en las proximidades de las células tubulares reduce los niveles intracelulares de aminoglucósido y disminuye, por tanto las posibilidades de fracaso renal; pensamos que, en estas circunstancias, las características farmacocinéticas de la gentamicina se verán modificadas. Nuestro objetivo se centra en analizar y cuantificar estas modificaciones y evaluar hasta que punto, la administración de calcio en tratamientos prolongados de gentamicina, es capaz de inducir cambios en los parámetros farmacocinéticos de distribución y eliminación del antibiótico que nos confirme, de forma fehaciente, el grado de protección que éste experimenta frente a la toxicidad renal que se genera tras la administración continua de este antibiótico aminoglucósido.

El estudio se realiza en animal de experimentación, para lo cual se eligen 36 conejos blancos neozelandeses cuyas características, cálculo de dosis y protocolo experimental quedan recogidas en el apartado de Material y Metodología (pag 115).

Se establecen tres situaciones de ensayo:

GRUPO I.- Constituido por 12 conejos a los que se administra gentamicina vía I.V. a razón de 20 mg/8 horas, durante 16 días de tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSION

GRUPO II.- Constituido por 12 conejos a los que se administra gentamicina vía I.V. a razón de 20 mg/8 horas y cloruro cálcico dihidratado vía oral a razón de 1g/día repartido en dos tomas, durante 16 días de tratamiento.

GRUPO III.- Constituido por 12 conejos que recibieron gentamicina y cloruro cálcico dihidratado con la misma pauta posológica que para el grupo anterior, y a los que se administró, además, verapamil vía I.V. a razón de 0.4 mg/8 horas, durante 16 días de tratamiento.

El incluir en el estudio este GRUPO III, se basa en que el verapamil puede reducir la secreción de la PTH (84-85), por tanto no incrementaría el daño renal solapando los efectos del Ca^{++} a este nivel; y si nos permitirá comprobar, por su efecto bloqueante de los canales de calcio, si el mecanismo protector de éste es extracelular o tiene lugar además la participación del flujo de calcio a través de membrana.

Las concentraciones plasmáticas de gentamicina obtenidas tras la administración en dosis múltiple, se encuentran recogidas en el ANEXO II (pag 283 a 316), en las tablas 1 a la 11 para el grupo de animales que recibió gentamicina, 12 a la 22 para el grupo de animales a los que se administró gentamicina y calcio y finalmente las tablas 23 a la 34 recogen dichas concentraciones para el grupo de animales que recibió gentamicina, calcio y verapamil.

RESULTADOS Y DISCUSION

Como puede observarse, en algunos casos se produce la muerte del animal antes de finalizar el ensayo a los 16 días de pauta posológica. A pesar de ello, se incluyen en el tratamiento de datos los conejos cuya muerte se produce como consecuencia de la administración reiterada de gentamicina y se excluyen aquellos en que la muerte sobrevino por otras causas, (conejos 12 y 24).

En dichas tablas quedan además reflejados los tiempos de administración, las dosis administradas, los tiempos de recogida de muestra y los aclaramientos de creatinina determinados a partir de los datos de creatinina sérica mediante la expresión establecida por Boroujerdi (1982) (136):

$$Cl_{CR} = (0.9833/CR) - 0.01558$$

donde Cl_{CR} es el aclaramiento de creatinina expresado en ml/min/Kg y CR es el valor de creatinina sérica expresado en mg/100 ml.

A lo largo de todo el estudio y a tiempos pre-establecidos, se evaluaron los niveles de creatinina y calcio sérico, como muestran las tablas 35 y 36 para el GRUPO I, 37 y 38 para el GRUPO II y 39 y 40 para el GRUPO III (ANEXO II

pag 317 a 322).

III.a.- TRATAMIENTO DE DATOS.

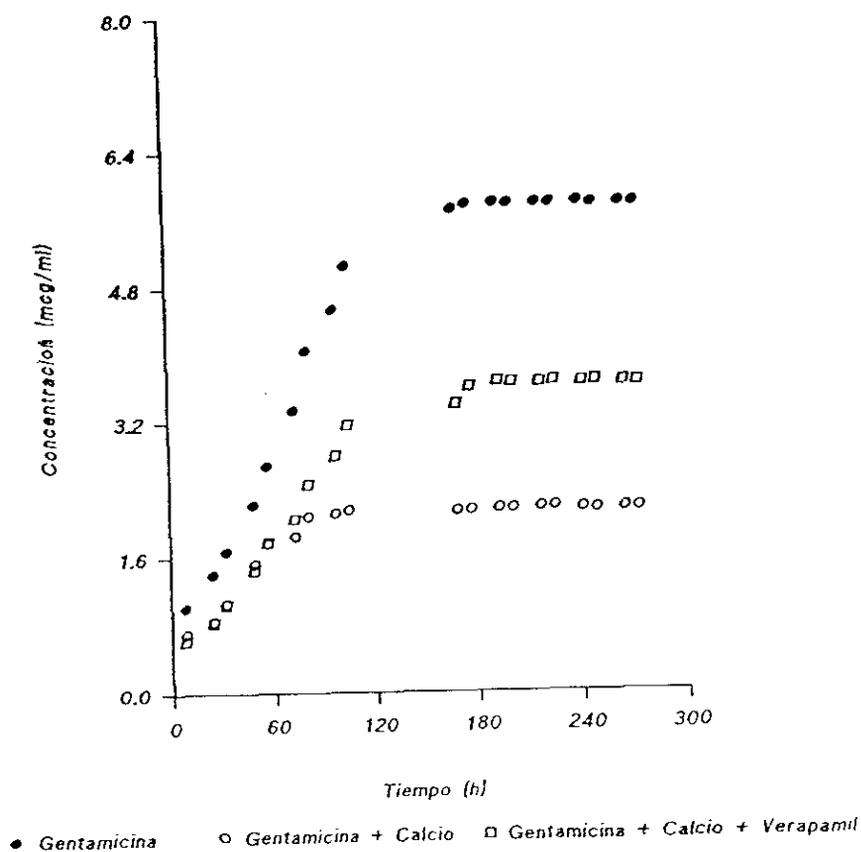
A la vista de las concentraciones plasmáticas de gentamicina obtenidas para cada animal de experimentación y con la finalidad de comprobar, en una primera aproximación, si se manifestaban diferencias de niveles entre los tres grupos establecidos, se calcularon los valores medios de concentración plasmática y sus desviaciones estándar para los integrantes de cada uno de los grupos. Las tablas 41, 42 y 43 (Anexo II pag 323 a 325) recogen estos valores.

El primer aspecto que llamó nuestra atención fue que las desviaciones respecto a los valores medios eran acusadas, como suele ocurrir cuando se realizan este tipo de estudios en animal de experimentación, pero estas eran mucho mayores en el grupo I (animales tratados con gentamicina) que en el grupo II y grupo III.

Cuando representamos gráficamente estos valores (figura 6), se observa que los niveles más elevados corresponden a los conejos a los que se administró exclusivamente gentamicina y

RESULTADOS Y DISCUSION

los niveles más bajos corresponden a los conejos que recibieron el tratamiento con gentamicina y calcio. El grupo de animales que recibió gentamicina, calcio y verapamil, adopta una situación intermedia.



RESULTADOS Y DISCUSION

A fin de corroborar de forma numérica la observación gráfica, realizamos la determinación de áreas parciales, mediante la regla trapezoidal, desde el inicio del estudio al tiempo de interrupción del tratamiento. Los valores de AUC_0^t ($mg \cdot L^{-1} \cdot h$) confirman estas diferencias. La tabla 44 (ANEXO II pag 326), muestra los valores de AUC_0^t correspondientes a cada uno de los conejos pertenecientes a los grupos I, II y III.

Para detectar posibles diferencias en los datos de área bajo la curva en los tres grupos, se aplica el test de Bartlett para comprobar la homogeneidad de las varianzas. La probabilidad inferior a 0.05 nos obliga a rechazar la hipótesis nula, en este caso las diferencias son significativas. Se procede, entonces, a aplicar el test de Kruskal-Wallis, cuyos resultados se encuentran recogidos en la tabla 45 (ANEXO II pag 327). El nivel de significación de $4.98 \cdot 10^{-5}$ sugiere la existencia de diferencias significativas entre los tres grupos estudiados.

A fin de buscar una explicación razonada, a las variaciones que se manifiestan en las desviaciones estándar obtenidas y tras realizar los valores medios de concentración de gentamicina en los tres grupos, llegamos a la conclusión que estas diferencias pueden deberse a que el estudio, en los grupos que recibieron gentamicina y gentamicina y calcio, fue realizado, por exigencias del ensayo, en dos periodos estacionales diferentes. Así:

RESULTADOS Y DISCUSION

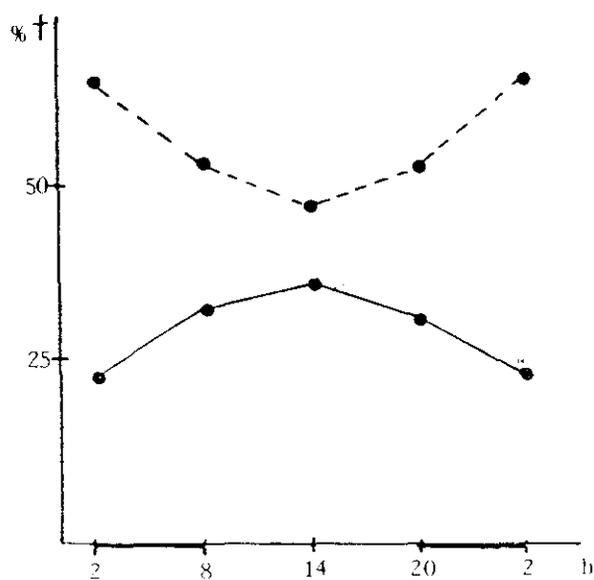
Periodo Estacional	Tratamiento Gentamicina	Tratamiento Gentam+Ca++	Tratamiento Gentam+Ca++Verap
	Conejos	Conejos	
	nº	nº	
Mayo			
Junio	6 al 10	13 al 18	-
Enero			
Febrero	1 al 5 y 11	19 al 23	25 al 36

Cambar y col. en 1987, destacan la influencia de variaciones circadianas y circanuales en la nefrotoxicidad producida por los antibióticos aminoglucósidos (137-138). En un primer estudio realizado por estos autores, se compara la influencia de la hora de administración sobre la toxicidad aguda de la gentamicina, dibecacina, netilmicina y amicacina. En el caso concreto de la amicacina el estudio se realiza en dos periodos estacionales distintos, primavera (marzo) e invierno (noviembre-diciembre).

Cuando se representa el porcentaje de mortalidad inducido

RESULTADOS Y DISCUSION

por la amicacina, en función de la hora de administración y estación, se observa que los cronogramas de mortalidad presentan un trazo inverso, como lo muestra la figura que se transcribe directamente del trabajo original de Cambar (138):



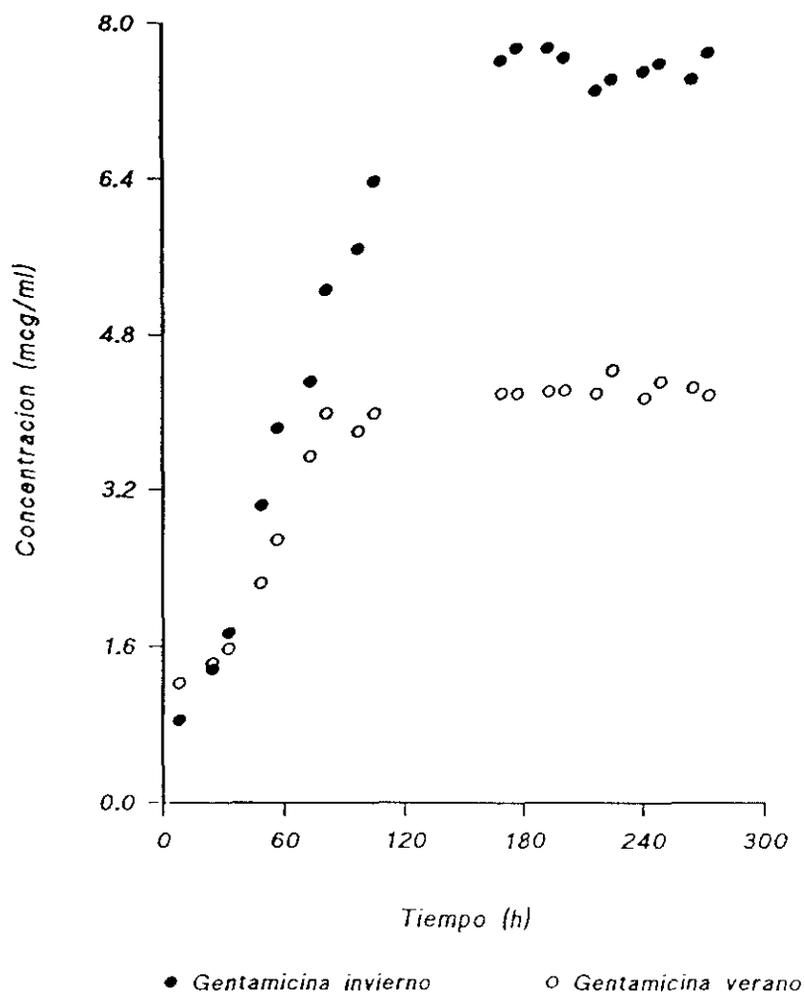
Cronogramas constituidos con los valores medios de porcentajes de mortalidad, dosis compendiadas, en función de la hora de administración de amicacina en invierno (línea punteada) y en primavera (línea continua).

RESULTADOS Y DISCUSION

Al comparar los resultados obtenidos en los dos estudios, se constata una diferencia en los niveles de toxicidad, diferencia que no se manifiesta, solamente, desde el punto de vista cualitativo, sino desde el punto de vista cuantitativo ya que la toxicidad es aproximadamente doble cuando el estudio se realiza en invierno (noviembre-diciembre).

Apoyados en la experiencia acumulada por Cambar, en este campo, calculamos los valores medios de concentración plasmática correspondiente a los conejos que recibieron tratamiento con gentamicina durante los meses de invierno y de verano (tabla 46, ANEXO II pag. 328), cuya evolución en el tiempo queda reflejada en la figura 7. Como puede observarse los niveles plasmáticos de gentamicina son, aparentemente muy superiores cuando el ensayo se realiza en los meses de enero-febrero, que cuando se realiza en mayo-junio.

RESULTADOS Y DISCUSION

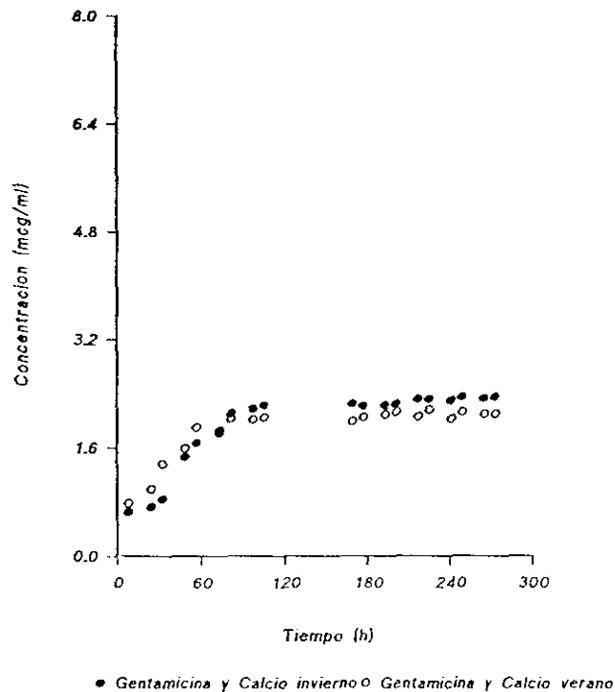


Estas diferencias quedan confirmadas cuando se determinan las áreas bajo la curva AUC_0^t para los dos subgrupos que constituyen el GRUPO I, y se realiza el correspondiente análisis estadístico. Las diferencias significativas nos

RESULTADOS Y DISCUSION

indican que no se trata de una población homogénea (tabla 47, ANEXO II pag. 329).

Cuando realizamos el mismo tratamiento con los conejos que recibieron gentamicina y calcio, durante los dos periodos estacionales (tabla 48, ANEXO II pag. 330), observamos, figura 8, que no se aprecian estas diferencias, es decir, los niveles de gentamicina no son superiores en los conejos tratados en invierno respecto a los tratados en verano.



El análisis estadístico realizado sobre los valores de

RESULTADOS Y DISCUSION

AUC_0^t (tabla 49, ANEXO II, pag. 331) nos confirma que las diferencias no son significativas y que ambos subgrupos que componen el GRUPO II pueden tratarse como una población única.

En una primera aproximación, creemos que esta diferencia de comportamiento puede tener su origen en el efecto protector del calcio. Si esto es así, cabe sospechar que el calcio, en su efecto protector del daño renal, favorezca, en mayor o menor cuantía la eliminación de gentamicina disminuyendo, entonces, la toxicidad del antibiótico y justificando unos niveles plasmáticos más bajos, no mostrándose, por ello, diferencias de comportamiento entre los dos periodos estacionales. Por el contrario, cuando se administra únicamente gentamicina, no se produce esta protección, se incrementa la toxicidad y ello revela un comportamiento de mayor toxicidad en invierno que en verano.

No cabe duda que el GRUPO I no puede ser considerado como una población homogénea. Dado que nuestro interés radica en diferenciar el comportamiento del grupo de animales tratados exclusivamente con gentamicina, del grupo de animales tratados con gentamicina y calcio, realizamos la comparación de áreas bajo la curva de acuerdo con el siguiente esquema:

A) GRUPO I invierno
GRUPO II invierno

B) GRUPO I verano
GRUPO II verano

RESULTADOS Y DISCUSION

La tabla 50, (ANEXO II pag. 332) muestra los resultados del análisis estadístico y en ambos casos las diferencias son significativas.

Creemos que se puede aceptar, que en nuestras condiciones de trabajo, se manifiesta una clara diferencia entre las concentraciones plasmáticas de gentamicina, cuando ésta se administra sola, cuando se administra con calcio y cuando se administra con calcio y verapamil y que es posible que estas diferencias se traduzcan en diferentes niveles de toxicidad.

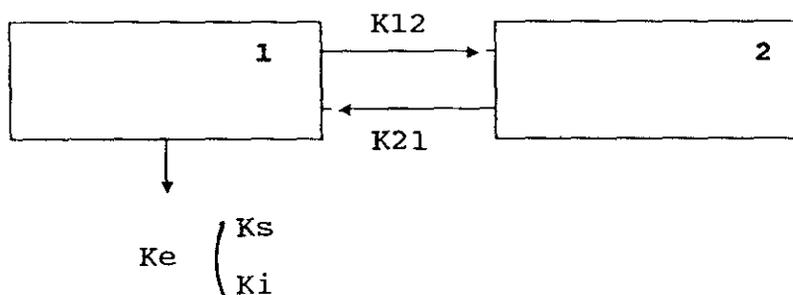
Dado que las dosis de gentamicina fueron iguales en los tres casos es importante dilucidar si la diferencia de niveles se debe a un incremento en la eliminación o a la modificación de cualquier otro parámetro cinético. Para ello, realizamos el análisis farmacocinético en dosis múltiple, en cada uno de los animales objeto de estudio, a fin de determinar qué parámetros farmacocinéticos permiten cuantificar estas diferencias.

III.b.- ANALISIS FARMACOCINETICO

Para la estimación de los parámetros farmacocinéticos, tras la administración de gentamicina en dosis múltiple, hemos utilizado una aproximación al "control de bucle cerrado", en el que las entradas (vías, dosis, intervalos..) en cada momento están en función de la respuesta medida. Esta aproximación, de reciente introducción en el campo de la Farmacocinética Clínica, se denomina Control Adaptado (131-132, 139-141). Su principal peculiaridad es que permite considerar cambios en el sistema debidos no solo al medicamento si no también atribuibles al organismo, considerando a éste como una unidad funcional dinámica.

El modelo farmacocinético utilizado es el bicompartimental:

RESULTADOS Y DISCUSION



en el que se lleva a cabo el desdoblamiento de la constante de eliminación, aprovechando la conocida relación lineal existente para los antibióticos aminoglucósidos entre dicha constante y el aclaramiento de creatinina (142-144). Como consecuencia de ello, el Control Adaptado utiliza, en nuestro caso, esta relación e introduce como variable fisio-patológica para el cálculo, los valores medidos de aclaramiento de creatinina, procediendo a la estimación de una constante denominada pendiente K_s y otra, intersección K_i , en lugar de la clásica constante de eliminación.

Evidentemente esta metódica, permite considerar el estado

fisiológico o patológico del individuo, no solo al inicio de la terapia, si no que puede considerar cambios en su funcionalidad renal en el transcurso del tratamiento, independientemente de cual sea la causa etiológica de los mismos. De esta manera, en cada momento se están considerando las características clínicas del individuo y es posible acomodar el cálculo de parámetros a los cambios que el organismo pueda experimentar.

De acuerdo con el modelo propuesto, cuyo planteamiento y estimación inicial de parámetros queda recogido en el apartado de Material y Metodología (pag 154), la determinación de los mejores estimados de los parámetros farmacocinéticos se realiza mediante el programa ADAPT, que permite la integración de las ecuaciones diferenciales:

$$dX_1/dt = - K_{12} \cdot X_1 - (K_i + K_s \cdot Cl_{CR})$$

$$dX_2/dt = K_{12} \cdot X_1 - K_{21} \cdot X_2$$

donde X_1 y X_2 representan las cantidades de medicamento que integran los compartimentos 1 y 2.

A titulo de ejemplo en el ANEXO IIa (pag 355) se recogen

RESULTADOS Y DISCUSION

los ajustes correspondientes a los conejos 2, 22 y 27 correspondientes a los grupos I, II y III respectivamente.

La utilización de toda la información generada por el sistema para la estimación de parámetros farmacocinéticos requiere de la utilización de un programa de ayuda o Editor. Basicamente el Editor transcribe la información que proporcionamos al ordenador en la forma en que se está produciendo. Por ello, las tablas de concentraciones plasmáticas de gentamicina correspondientes a cada uno de los conejos que participaron en el estudio, se transcribe de forma análoga a como lo utiliza el programa Editor.

Las tablas 51 a 53 (Anexo II pag 333-335), recogen los parámetros farmacocinéticos estimados tras el ajuste, los valores medios y la desviaciones estándar correspondientes a cada uno de los animales objeto de estudio. Como puede observarse, los conejos 5 y 12 correspondientes al grupo I, 20 y 24 correspondientes al grupo II y 34 perteneciente al grupo III, no están incluidos en las tablas de parámetros. En ellos el ensayo transcurrió con normalidad, no obstante no fue posible el ajuste de niveles al modelo planteado al no alcanzarse la convergencia.

Con el fin de comparar los parámetros farmacocinéticos resultantes del ajuste, y teniendo en cuenta los criterios

estadísticos planteados en el apartado de Material y Metodología (pag. 157), se aplica en primer lugar el test de Bartlett para comprobar la homogeneidad de las varianzas. Para K_2 , y $K_{12} \cdot V_1$, la probabilidad es superior a 0.05 por lo que se acepta la hipótesis nula, es decir, las diferencias no son significativas.

Las tablas 54 y 55 (ANEXO II pag. 336-337) contienen estos resultados e incluyen el análisis de varianza monodireccional que se realiza para estos dos parámetros. En ellas se muestra que el valor de F igual a 6,23 y 4,58 es superior al tabulado (3.34) para un 95% de probabilidad, lo que sugiere la existencia de diferencias significativas entre los tres grupos estudiados.

Para los parámetros K_{12} , K_i , K_s y V_1 , el test de homogeneidad de varianzas nos muestra una probabilidad inferior a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula. En este caso las diferencias son significativas, lo que nos obliga a elegir un test no paramétrico o test de Kruskal-Wallis. Las tablas 56 a 59 (ANEXO II pag. 338-341) recogen estos resultados ; en ellas se observa que los parámetros K_s y V_1 , difieren de forma significativa para un 95% de probabilidad.

En definitiva, cuando se comparan los tres grupos estudiados, considerando el GRUPO I en su totalidad, se observa

RESULTADOS Y DISCUSION

que los parámetros K_{21} , $K_{12} \cdot V_1$, K_s y V_1 son significativamente distintos en los tres grupos estudiados. Por el contrario K_{12} y K_i no muestran diferencias significativas.

Es importante, a nuestro juicio, el comportamiento de K_i y de K_s que constituyen, respectivamente, la constante de la intersección y de la pendiente en que se desdobra la K_e empleada en la práctica de forma habitual. De acuerdo con la relación:

$$K_e = K_i + K_s \cdot Cl_{CR}$$

la K_i lleva implícito el componente extrarrenal y K_s el componente renal en la eliminación de la gentamicina.

A la vista de los resultados del análisis estadístico, no se manifiestan diferencias en el componente extrarrenal K_i entre los tres grupos estudiados y por el contrario el componente renal si difiere de forma significativa entre el grupo de animales que recibió gentamicina, gentamicina y calcio y gentamicina, calcio y verapamil.

En el análisis realizado, también difieren de forma significativa otros parámetros (K_{21} , V_1 , $K_{12} \cdot V_1$); sin embargo,

RESULTADOS Y DISCUSION

nos centramos en aquellos que definen los procesos de eliminación por entender que en el estudio planteado, son precisamente estos parámetros los más implicados.

El considerar el GRUPO I dividido en dos subgrupos nos obliga a analizar las diferencias farmacocinéticas que se manifiestan entre ambos. Al comparar los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras realizar el estudio en invierno y en verano, el análisis estadístico (tabla 60, ANEXO II, pag. 342) nos muestra que los parámetros K_{12} y K_s son significativamente distintos, mientras que las diferencias son no significativas para el resto de los parámetros. Se confirma que, en nuestras condiciones de trabajo, las diferencias de niveles de gentamicina en los dos periodos estacionales, se deben a una modificación en las características de excreción renal del antibiótico que se traduce, no solo en las diferencias de concentración, sino, posiblemente, en distinto grado de toxicidad tal y como lo afirman Cambar y col (137-138).

Cuando se comparan los parámetros farmacocinéticos correspondientes al GRUPO I y al GRUPO II, de acuerdo con el esquema planteado inicialmente:

A) GRUPO I invierno
GRUPO II invierno

B) GRUPO I verano
GRUPO II verano

RESULTADOS Y DISCUSION

vemos que las diferencias, que ya en un principio se manifestaban al analizar los valores de AUC_0^t , se vuelven a confirmar desde el punto de vista farmacocinético y, tanto en la situación A como en la B, las diferencias se deben fundamentalmente a K_s como lo confirma el tratamiento estadístico realizado sobre los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste (tablas 61 y 62, ANEXO II, pag. 343-344).

El hecho de no haber incluido en la situación A el grupo de animales tratados con gentamicina, calcio y verapamil, realizado en su totalidad en los meses de enero-febrero, se debe a que se trata de grupos numéricamente muy diferentes (doce animales frente a seis que constituyen los otros dos) y ello puede inducir a error. Por otro lado, las dosis de gentamicina y calcio son análogas a las del GRUPO II y lo que nos interesa, en este caso, es analizar a que nivel de la célula del túbulo renal juega el calcio su papel protector.

Por ello, comparamos el GRUPO II y el GRUPO III, y observamos que los niveles plasmáticos de gentamicina correspondientes al GRUPO III son superiores a los del GRUPO II (figura 6) y que, las diferencias de AUC_0^t , son significativas (tabla 63, ANEXO II pag. 345). Al igual que en las otras situaciones, al realizar el tratamiento estadístico a los parámetros farmacocinéticos correspondientes a ambos grupos (tabla 64, ANEXO II, pag. 346) comprobamos

RESULTADOS Y DISCUSION

como, una vez mas, la K_s es la responsable de estas diferencias.

No cabe duda que, si el mecanismo protector del calcio se debiera únicamente a una competición entre gentamicina y calcio por los fosfolípidos de membrana, estas diferencias no se manifestarían. Creemos posible, entonces, que el flujo de calcio a través de la membrana celular juega también su papel en el efecto protector del daño renal y con esta alterada como consecuencia del verapamil, la protección es menor, las concentraciones plasmáticas de gentamicina son mayores y se incrementa el riesgo de toxicidad renal.

RESULTADOS Y DISCUSION

III.c.- DETERMINACION DE GENTAMICINA EN TEJIDO RENAL

Tal y como se describe en el apartado de Material y Metodología (pag. 122), una vez finalizado el estudio se procede al sacrificio del animal, mediante inhalación de CO durante unos segundos, y se practica una incisión media abdominal a fin de extraer los dos riñones para su estudio histopatológico así como para la cuantificación de gentamicina en corteza y en médula renal.

La determinación de gentamicina en dicho órgano y su cuantificación por el método microbiológico, único procedimiento disponible por nosotros cuando se realizó el estudio, resulta complejo y poco exacto ya que la valoración ha de ser inmediata y no hay posibilidades de repetir dicha técnica para confirmar los resultados, tal y como se ha hecho con las determinaciones plasmáticas. Por ello, los datos los incluimos con las correspondientes reservas, sabiendo que no serán nunca unos valores que confirmen unos hechos, pero sí pueden resultar orientativos de toda la experimentación acumulada en este trabajo.

La tabla 65 (ANEXO II, pag. 347), muestra las concentraciones de gentamicina encontradas en riñón, expresadas en mcg/g de tejido, correspondientes a cada uno de los animales

RESULTADOS Y DISCUSION

que participaron en el estudio, cuyos valores medios son de 228.60 mcg/g para el GRUPO I que recibió exclusivamente gentamicina, 156.98 mcg/g para los conejos tratados con gentamicina y calcio y 202.7 mcg/g para el GRUPO III que recibió gentamicina, calcio y verapamil.

La figura 9, refleja estos resultados, en ella se observa como en los animales correspondientes al GRUPO I los niveles son superiores a los del GRUPO II e igual que en otras ocasiones los animales tratados con gentamicina, calcio y verapamil adoptan una situación intermedia.

RESULTADOS Y DISCUSION

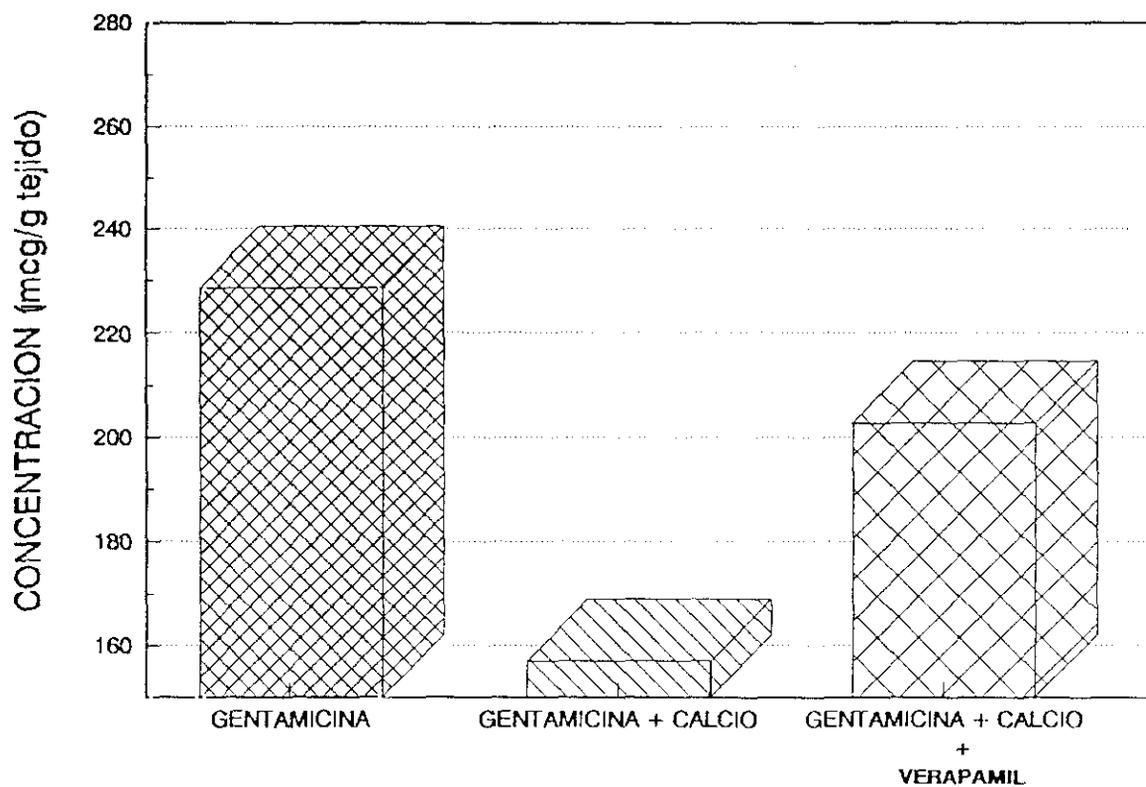


Fig. 9.

A fin de comparar las cantidades de antibiótico acumuladas en riñón en los tres grupos estudiados, se realiza el correspondiente análisis estadístico (tabla 66, ANEXO II, pag. 348)

RESULTADOS Y DISCUSION

y se observa que, una vez más, las diferencias son significativas lo que nos indicaría que, en presencia de calcio, el grado de acumulación de la gentamicina a tejido renal es menor.

Cuando comparamos los dos subgrupos que constituyen el GRUPO I, vemos que estas cantidades de aminoglucósido fijadas en estructura renal, también difieren de forma significativa (tabla 67, ANEXO II, pag. 349), correspondiéndole una mayor acumulación a los conejos que en invierno fueron tratados con gentamicina.

Por último, cuando comparamos GRUPO I invierno y GRUPO II invierno (situación A), y ambos grupos en verano (situación B) de nuevo encontramos diferencias significativas. Diferencias que quedan reflejadas en la figura 10 y recogidas en las tablas 68 y 69 (ANEXO II, pag. 350-351) con el correspondiente tratamiento estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSION

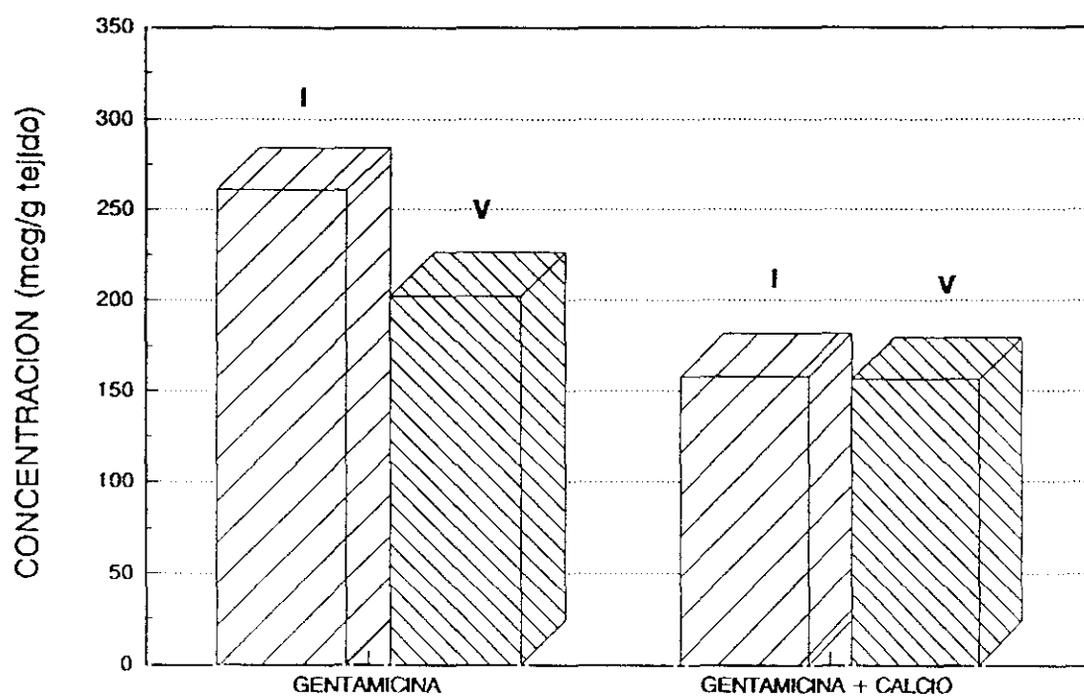


Fig. 10.

III.d.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

De acuerdo con lo expuesto en el apartado de Material y

RESULTADOS Y DISCUSION

Metodología (pag. 126), y con el fin de detectar las lesiones producidas por el antibiótico a nivel renal y su posible protección mediante el calcio, se procede a su estudio histopatológico por microscopía óptica y por microscopía electrónica.

Para que dicho estudio fuese "ciego" y llevado a cabo con el máximo rigor, las muestras se enviaron al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Ramón y Cajal, donde se realizó esta fase del estudio, sin la numeración habitual, solamente con una clave que permitiese su posterior identificación.

Las tablas 70, 71 y 72 (ANEXO II, pag. 352-354) muestran los resultados del informe histopatológico correspondiente a los tres grupos de animales que participaron en el estudio. Como puede observarse la incidencia de lesiones y la gravedad de las mismas es acusada en los animales correspondientes al GRUPO I, y tiene mucha menos significación cuando se realiza la administración de gentamicina y calcio (GRUPO II). Cuando se administra gentamicina, calcio y verapamil (GRUPO III), se observa que la incidencia de lesiones es manifiesta pero sin embargo es menor la gravedad de las mismas.

RESULTADOS Y DISCUSION

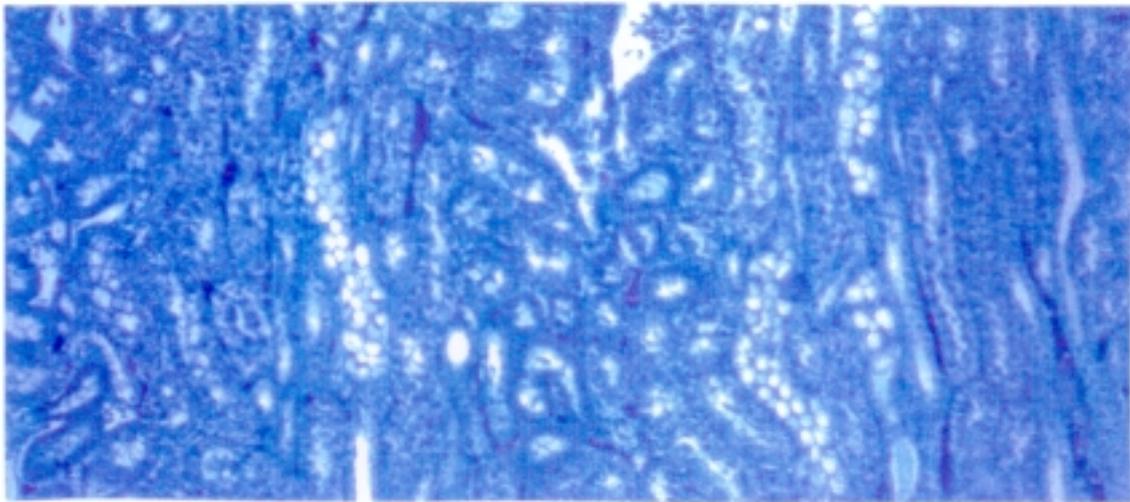
INFORME MICROSCOPIA OPTICA:

Las lesiones histopatológicas que se resumen en las tablas 70, 71 y 72 (Anexo II, pag 352-354) , no residen nunca en estructuras glomerulares ni tampoco en los vasos arteriales de ningún calibre y quedan reducidas a microvacuolas que afectan a los túbulos, así como signos de congestión de los vasos intersticiales . Menos frecuente hallamos acúmulos de sales cálcicas (calcificación distrófica) en áreas corticales.

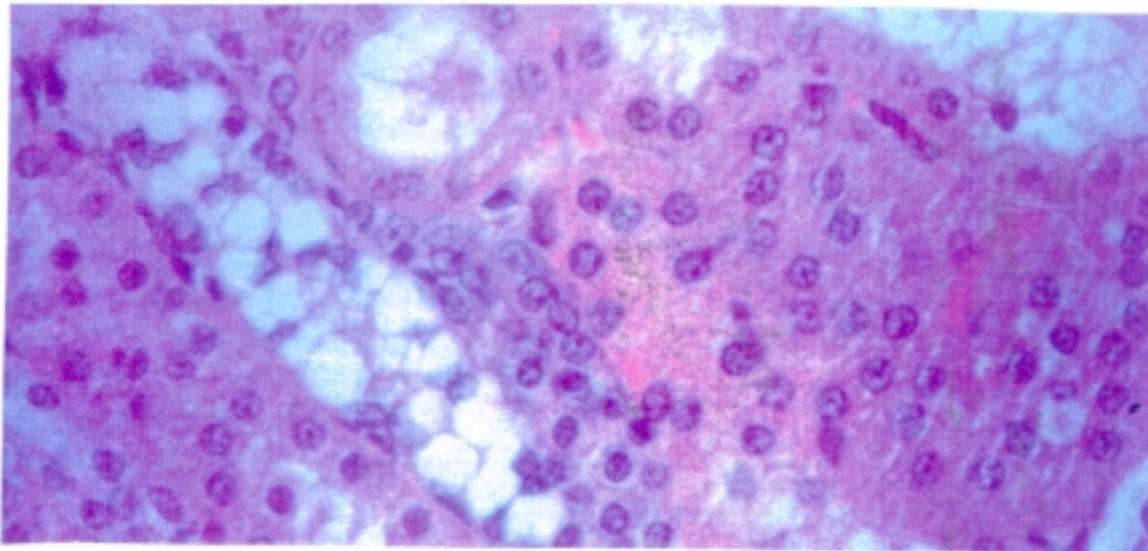
A fin de ilustrar, de forma gráfica, el contenido del informe se realizaron algunas fotografías de aquellos "cortes" de riñón que resultaron más interesantes desde el punto de vista histológico y más significativas en el aspecto de la toxicidad inducida por gentamicina.

La fotografía 1, corresponde al conejo n° 10 que fue tratado exclusivamente con gentamicina, se observan lesiones microvacuolares . En la fotografía 2, correspondiente al mismo animal de experimentación, pueden verse, con más aumentos, las microvacuolas de las células tubulares , lesión que se manifiesta de forma análoga en el conejo n° 8 (GRUPO I) y que se refleja en la fotografía 3.

RESULTADOS Y DISCUSION

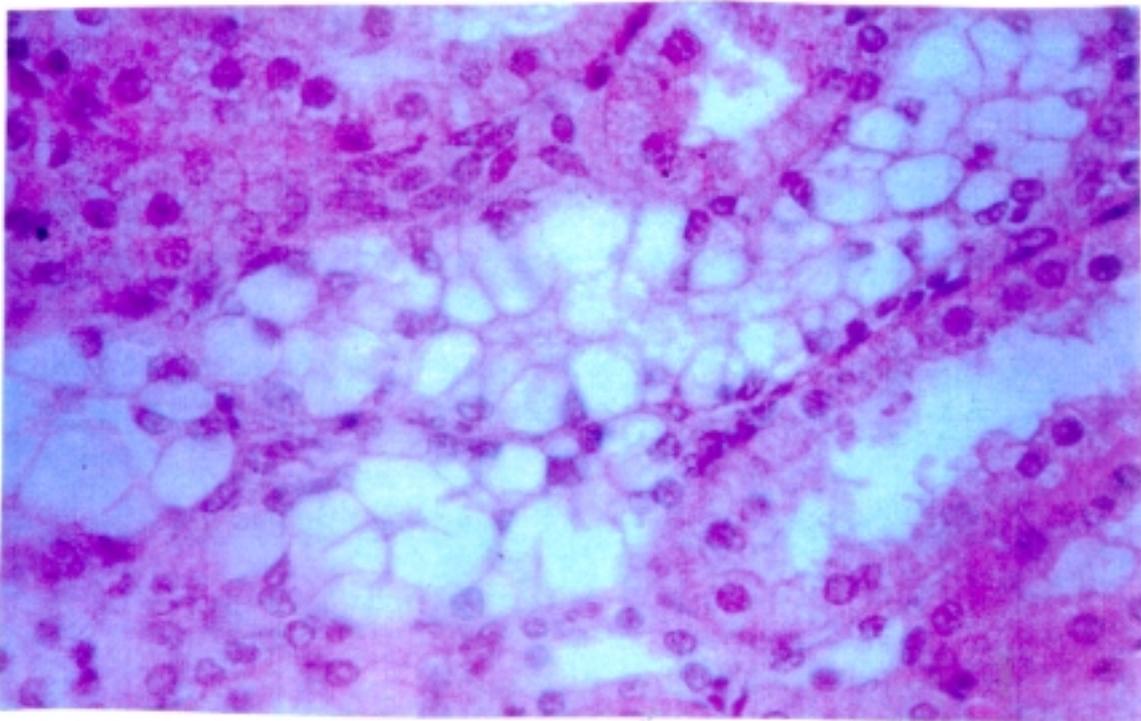


FOTOGRAFIA N° 1 : Panorámica corticomedular con lesiones microvacuolares. (Tricrómico de Masson. x 10).



FOTOGRAFIA N° 2 : Microvacuolas de las células tubulares. (H.E. x 40.)

RESULTADOS Y DISCUSION



**FOTOGRAFIA N° 3 : Detalle de las microvacuolas.
(H.E. x 40).**

RESULTADOS Y DISCUSION

En los integrantes de este mismo grupo se produce algún caso de calcificación intersticial, como se muestra en las fotografías 4 y 5 que corresponden ambas al conejo nº 1 y que se diferencian únicamente en que la observación de la segunda se lleva a cabo con más aumentos. En ellas se constata con detalle la existencia de depósitos de sales cálcicas signo de la posible necrosis tubular.

Por el contrario, cuando se administra gentamicina + calcio, las lesiones tubulares son mínimas o no se manifiestan. La fotografía 6, recoge una imagen panorámica renal que aparece prácticamente normal en todas sus estructuras y corresponde al conejo nº 16 del GRUPO II. Sin embargo, en algún caso aparecieron signos de congestión, como se observa en las fotografías 7 y 8 que corresponden respectivamente a los conejos nº 20 y 23 (GRUPO II), que bien pudiera deberse al propio sacrificio del animal.

En la fotografía 9, se observa un panorama renal prácticamente normal donde únicamente se manifiesta una pequeña degeneración tubular. Corresponde esta fotografía al "corte" renal del conejo nº 30 perteneciente al GRUPO III. No obstante, este grupo es heterogéneo y la fotografía 10 nos muestra una degeneración tubular más significativa que corresponde al conejo nº 29 (GRUPO III).

RESULTADOS Y DISCUSION

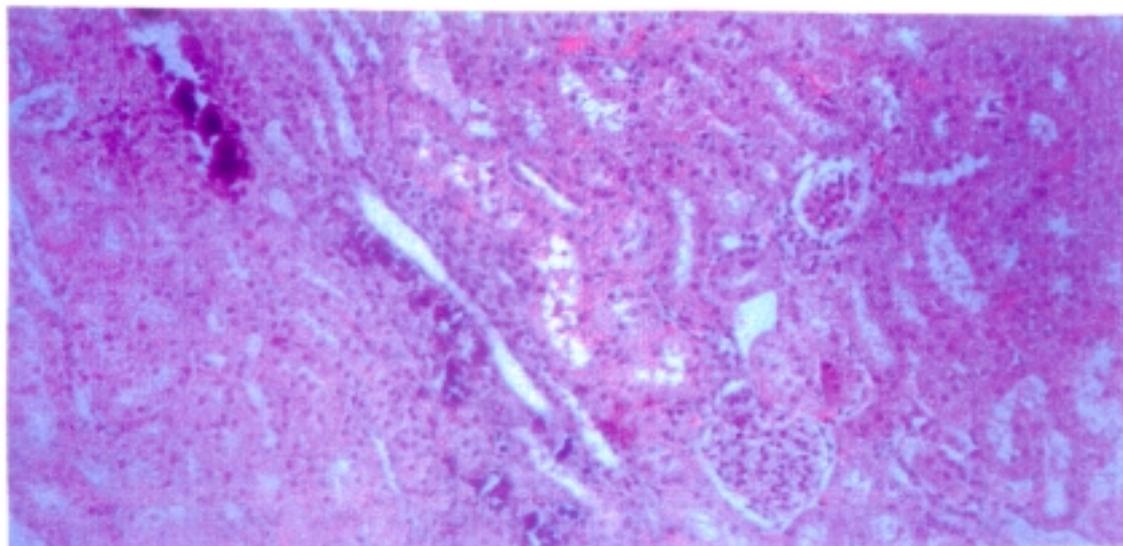
En definitiva, tras la microscopía óptica se observa en el grupo I la presencia de vacuolas a nivel cortical que pudieran conducir a necrosis tubular como se pone de manifiesto por la existencia de depósitos de sales cálcicas.

No obstante, nuestro objetivo se centra en el efecto protector del calcio en tratamientos prolongados con gentamicina y al no observarse alteraciones significativas en estos conejos tras la microscopía óptica se realiza la microscopía electrónica en los animales de experimentación integrantes del grupo II.

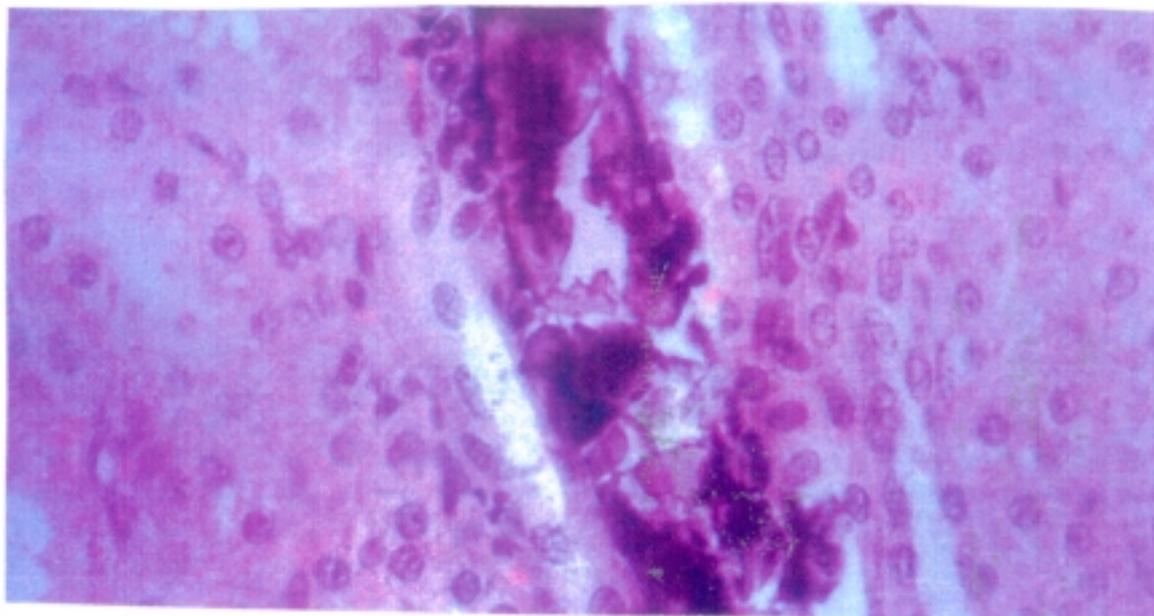
INFORME MICROSCOPIA ELECTRONICA:

Los hallazgos quedan reducidos a dilataciones vesiculares o vacuolares de los elementos cisternales del retículo endoplásmico que no afectan a las restantes estructuras citoplasmáticas, apareciendo siempre en las vecindades de mitocondrias y lisosomas. Como puede observarse en las fotografías 11 y 12 se manifiesta la presencia de vacuolas de menor tamaño y significación que las observadas tras la microscopía óptica, en los animales de experimentación pertenecientes al grupo I.

RESULTADOS Y DISCUSION

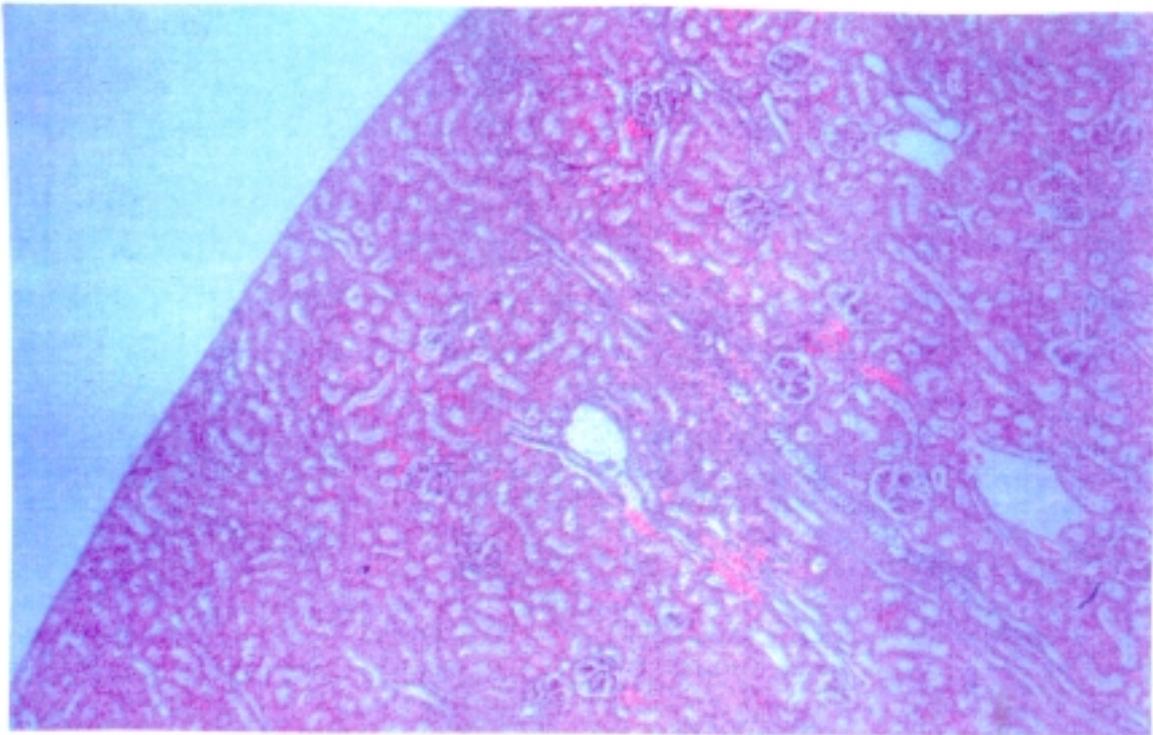


FOTOGRAFIA N° 4 : Calcificación intersticial, con estructuras renales bien conservadas. (H.E. x 10).



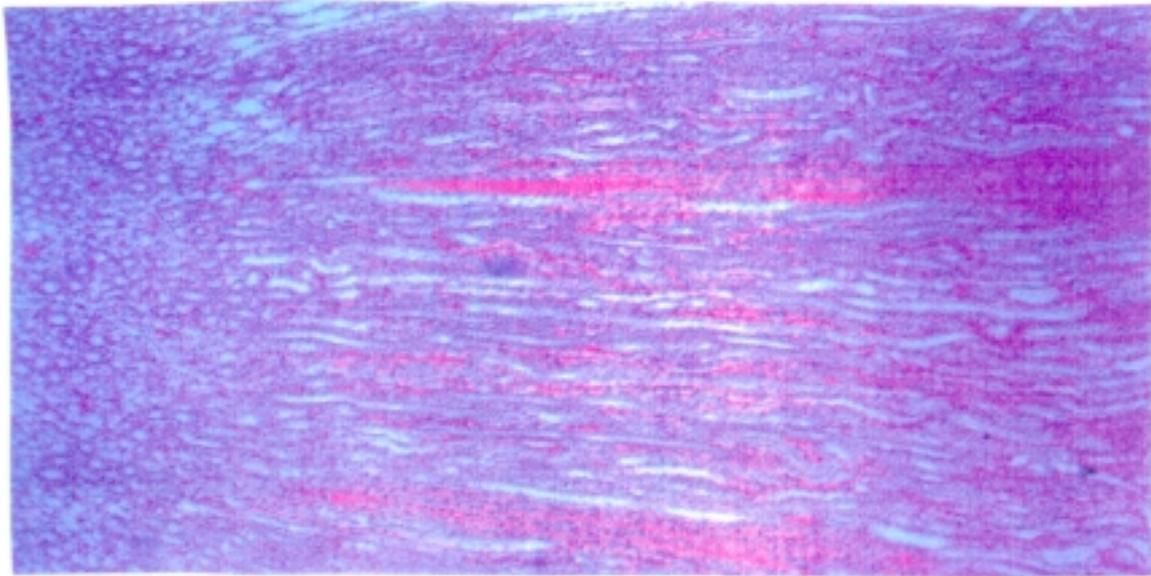
FOTOGRAFIA N° 5 : Detalle de los depósitos de sales cálcicas. (H.E. x 40).

RESULTADOS Y DISCUSION

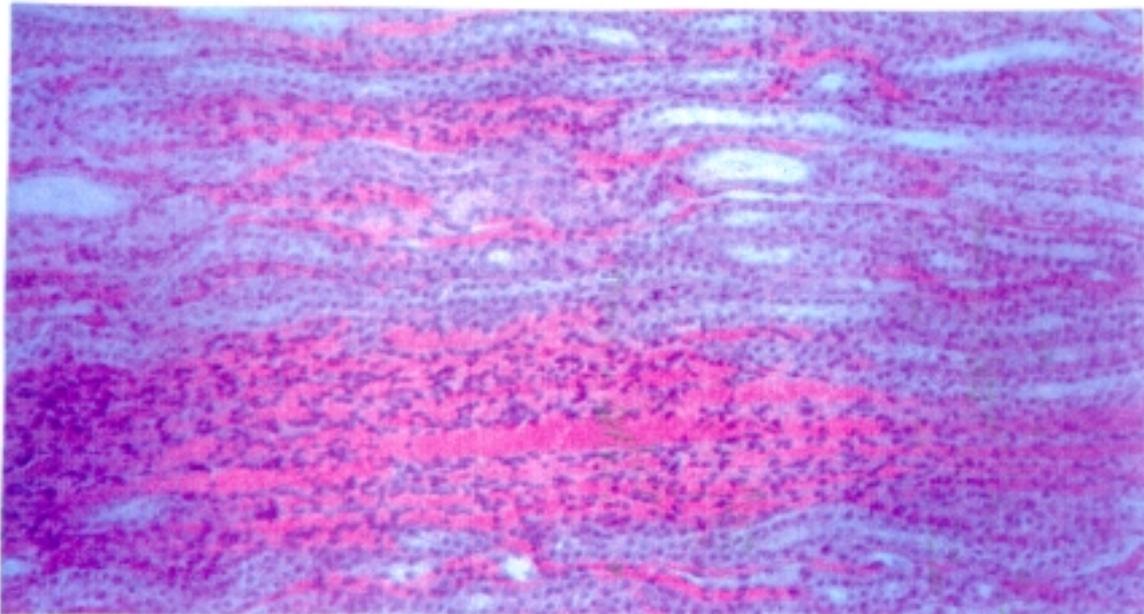


FOTOGRAFIA N° 6 : Panorámica renal, que aparece normal en todas sus estructuras. (H.E. x 4).

RESULTADOS Y DISCUSION

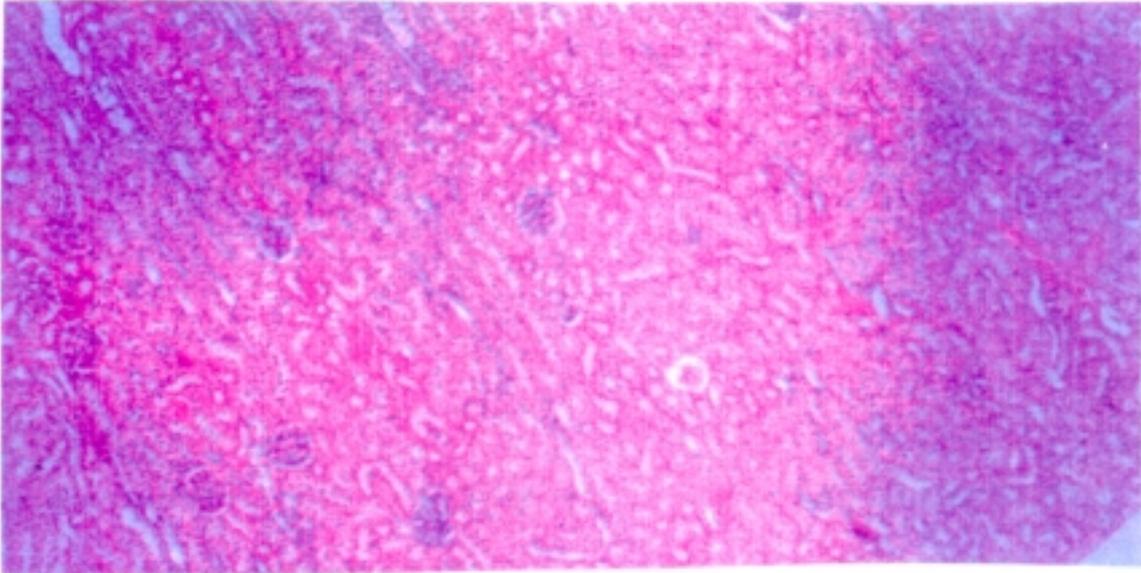


FOTOGRAFIA N° 7 : Congestión de capilares cortcales en su zona de unión medular. (H.E. x 4).

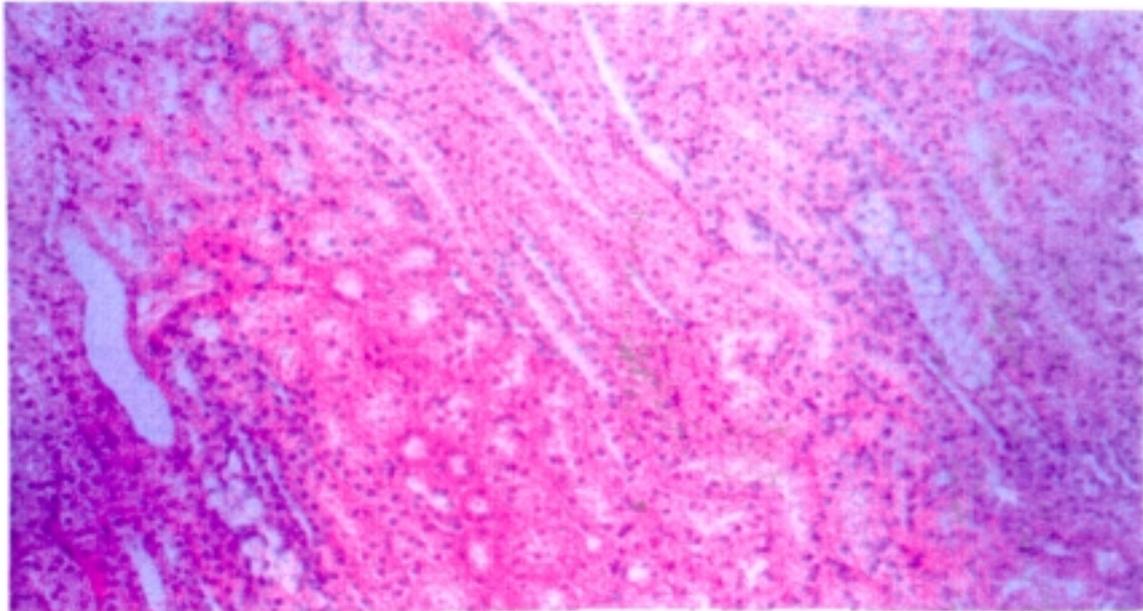


FOTOGRAFIA N° 8 : Detalle de la congestión con compresión y desestructuración tubular. (H.E. x 10).

RESULTADOS Y DISCUSION

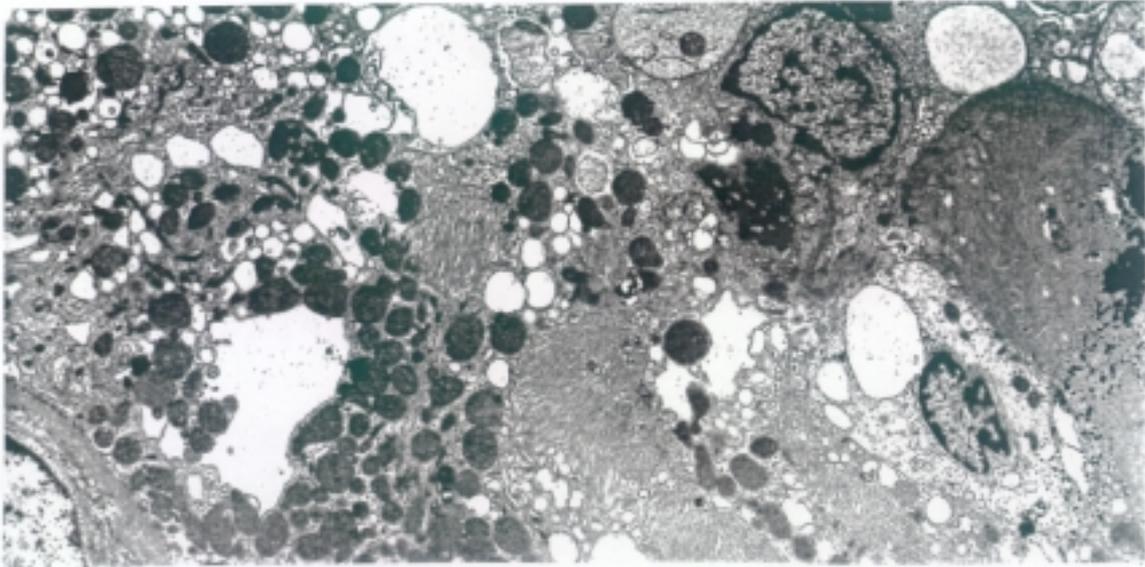


FOTOGRAFIA N° 9 : Panorámica renal practicamente normal
Presencia de pequeña degeneración tubular. (H.E. x 4).

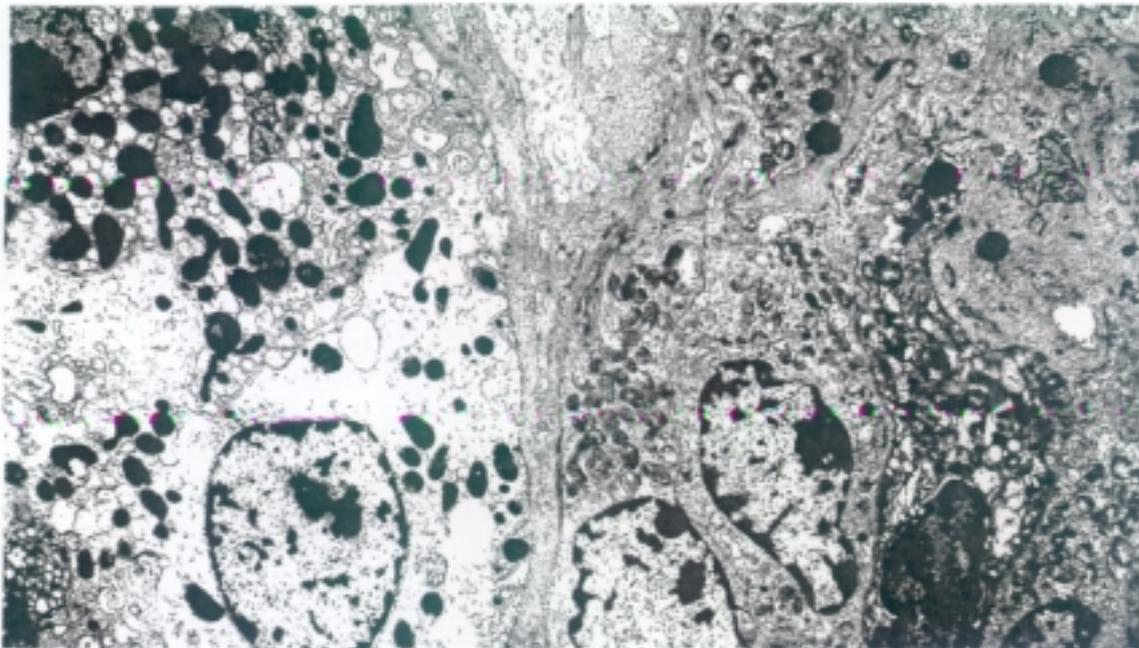


FOTOGRAFIA N° 10 : Microvacuolas de las células tubulares.
(H.E: x 10).

RESULTADOS Y DISCUSION



FOTOGRAFIA N° 11 : Tubo contorneado proximal con claras microvacuolas irregularmente diseminadas por el citoplasma desplazando al nucleo. (M.E. x 9.900).



FOTOGRAFIA N° 12 : Microvacuolización del retículo endoplásmico. (M.E. x 9.900).

III.e.- COMENTARIOS.

A la vista de los resultados obtenidos en este estudio y con las reservas propias de una casuística limitada, podemos afirmar que, en nuestras condiciones de trabajo, la gentamicina manifiesta una diferencia de comportamiento en los tres grupos establecidos.

No cabe duda que, en esta situación, la presencia de calcio reduce los niveles plasmáticos de gentamicina como consecuencia de un aumento en el proceso de excreción renal del antibiótico o lo que es lo mismo, una disminución en el grado de insuficiencia renal que provocaría la administración conjunta de gentamicina.

Desde el punto de vista farmacocinético, se ha podido evaluar esta diferencia de comportamiento, confirmándose que radica fundamentalmente en el parámetro que lleva implícito el componente de excreción renal K_s y como consecuencia de esta diferencia, los parámetros que definen los procesos de distribución, también se ven modificados.

Pero, ¿cuál es el mecanismo por el que el calcio induce

RESULTADOS Y DISCUSION

estas modificaciones? desde nuestro punto de vista, y con tan reducido número de animales de experimentación, sería aventurado el dar una respuesta. No obstante, el comportamiento del GRUPO III diferente al del GRUPO II, con igual dosis de gentamicina y calcio, hace suponer que el Ca^{++} que se moviliza a través de la membrana juega un papel importante en este proceso.

No formaba parte de nuestro objetivo inicial el estudiar la influencia de las variaciones circanuales en la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Sin embargo, cuando por exigencias del trabajo, nos encontramos con dos subgrupos claramente diferenciados en virtud de los dos periodos estacionales en que se llevan a cabo los ensayos, pudimos constatar que, a igualdad de dosis, los niveles más elevados de gentamicina corresponden a los tratamientos realizados en invierno. Desde el punto de vista farmacocinético hemos podido comprobar que las diferencias radican, una vez mas, en la excreción renal del antibiótico que está condicionada, lógicamente, por el grado de nefrotoxicidad.

Por tanto, tal y como lo demuestran Cambar y col... (137-138), la toxicidad de estos antibióticos es tanto mayor cuando el tratamiento se lleva a cabo en invierno y desciende de forma significativa cuando se realiza en periodo estival.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.17	-	-
7.5	20	0.17	7.41	0.88
14.5	20	0.17	-	-
23.75	20	0.17	23.66	1.48
31.75	20	0.17	31.66	2.15
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.12	47.91	2.21
56	20	0.12	55.91	2.49
62	20	0.12	-	-
72.5	20	0.12	72.41	2.80
80.5	20	0.12	80.41	3.55
86.5	20	0.13	-	-
96.5	20	0.13	96.41	5.61
104.5	20	0.13	104.41	6.42
110.5	20	0.13	-	-
120.5	20	0.13	-	-
128.5	20	0.13	-	-
134.5	20	0.13	-	-
144.5	20	0.13	-	-
152.5	20	0.13	-	-
158.5	20	0.14	-	-
168.5	20	0.14	168.41	7.35
176.5	20	0.14	176.41	7.87
182.5	20	0.14	-	-
192.5	20	0.14	192.41	7.87
200.5	20	0.14	200.41	8.04
206.5	20	0.14	-	-
216.5	20	0.14	216.41	7.60
224.5	20	0.14	224.41	8.04
230.5	20	0.13	-	-
240.5	20	0.13	240.41	8.04
248.5	20	0.13	248.41	7.60
254.5	20	0.13	-	-
264.5	20	0.13	264.41	7.97
272.5	20	0.13	272.41	8.10
278.5	20	0.13	-	-
288.5	20	0.13	-	-
296.5	20	0.13	-	-
302.5	20	0.13	-	-
312.5	20	0.13	-	-
320.5	20	0.13	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	21.49
-	-	-	340.5	18.55
-	-	-	342.5	9.89

Tabla. 1. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 1.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.15	-	-
7.5	20	0.15	7.41	1.10
14.5	20	0.15	-	-
23.75	20	0.15	23.66	2.15
31.75	20	0.15	31.66	2.69
38.75	20	0.13	-	-
48	20	0.13	47.91	3.15
56	20	0.13	55.91	3.35
62	20	0.13	-	-
72.5	20	0.13	72.41	3.69
80.5	20	0.13	80.41	4.50
86.5	20	0.15	-	-
96.5	20	0.15	96.41	5.61
104.5	20	0.15	104.41	7.87
110.5	20	0.15	-	-
120.5	20	0.15	-	-
128.5	20	0.15	-	-
134.5	20	0.15	-	-
144.5	20	0.15	-	-
152.5	20	0.15	-	-
158.5	20	0.13	-	-
168.5	20	0.13	168.41	7.87
176.5	20	0.13	176.41	7.87
182.5	20	0.13	-	-
192.5	20	0.13	192.41	7.87
200.5	20	0.13	200.41	7.60
206.5	20	0.13	-	-
216.5	20	0.13	216.41	7.20
224.5	20	0.13	224.41	7.60
230.5	20	0.11	-	-
240.5	20	0.11	240.41	7.60
248.5	20	0.11	248.41	8.10
254.5	20	0.11	-	-
264.5	20	0.11	264.41	7.47
272.5	20	0.11	272.41	7.97
278.5	20	0.11	-	-
288.5	20	0.11	-	-
296.5	20	0.11	-	-
302.5	20	0.11	-	-
312.5	20	0.11	-	-
320.5	20	0.11	-	-
326.5	20	0.07	-	-
336.5	20	0.07	-	-
-	-	-	338.5	20.84
-	-	-	340.5	11.75
-	-	-	342.5	9.65

Tabla. 2. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 2.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.76
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	1.10
31.75	20	0.12	31.66	1.28
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.10	47.91	4.00
56	20	0.10	55.91	4.24
62	20	0.10	-	-
72.5	20	0.10	72.41	4.50
80.5	20	0.10	80.41	5.06
86.5	20	0.03	-	-
96.5	20	0.03	96.41	15.49
104.5	20	0.03	104.41	17.74
110.5	20	0.03	-	-
120.5	20	0.03	-	-
128.5	20	0.03	-	-
134.5	20	0.03	-	-
144.5	20	0.03	-	-
152.5	20	0.03	-	-
158.5	20	0.008	-	-
168.5	20	0.008	168.41	21.74
176.5	20	0.008	176.41	22.74
182.5	20	0.008	-	-

Tabla. 3. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 3.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.13	-	-
7.5	20	0.13	7.41	0.82
14.5	20	0.13	-	-
23.75	20	0.13	23.66	0.95
31.75	20	0.13	31.66	1.10
38.75	20	0.14	-	-
48	20	0.14	47.91	2.21
56	20	0.14	55.91	2.97
62	20	0.14	-	-
72.5	20	0.14	72.41	3.35
80.5	20	0.14	80.41	4.87
86.5	20	0.12	-	-
96.5	20	0.12	96.41	5.61
104.5	20	0.12	104.41	6.00
110.5	20	0.12	-	-
120.5	20	0.12	-	-
128.5	20	0.12	-	-
134.5	20	0.12	-	-
144.5	20	0.12	-	-
152.5	20	0.12	-	-
158.5	20	0.08	-	-
168.5	20	0.08	168.41	7.35
176.5	20	0.08	176.41	7.35
182.5	20	0.08	-	-
192.5	20	0.08	192.41	7.35
200.5	20	0.08	200.41	6.47
206.5	20	0.08	-	-
216.5	20	0.08	216.41	6.83
224.5	20	0.08	224.41	6.47
230.5	20	0.04	-	-
240.5	20	0.04	240.41	7.20
248.5	20	0.04	248.41	6.68
254.5	20	0.04	-	-
264.5	20	0.04	264.41	6.64
272.5	20	0.04	272.41	7.01
278.5	20	0.04	-	-
288.5	20	0.04	-	-
296.5	20	0.04	-	-
302.5	20	0.04	-	-
312.5	20	0.04	-	-
320.5	20	0.04	-	-
326.5	20	0.009	-	-
336.5	20	0.009	-	-
-	-	-	338.5	17.10
-	-	-	340.5	11.01
-	-	-	342.5	8.46

Tabla. 4. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 4.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.82
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	1.60
31.75	20	0.12	31.66	2.15
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.11	47.91	5.37
56	20	0.11	55.91	8.12
62	20	0.11	-	-
72.5	20	0.11	72.41	9.14
80.5	20	0.11	80.41	10.28
86.5	20	0.09	-	-
96.5	20	0.09	96.41	32.64
104.5	20	0.09	104.41	37.38
110.5	20	0.09	-	-
120.5	20	0.09	-	-
128.5	20	0.09	-	-
134.5	20	0.09	-	-
144.5	20	0.09	-	-
152.5	20	0.09	-	-
158.5	20	0.02	-	-

Tabla. 5. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 5.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.67
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	0.77
31.75	20	0.12	31.66	0.77
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.12	47.91	0.77
56	20	0.12	55.91	1.44
62	20	0.12	-	-
72.5	20	0.12	72.41	2.85
80.5	20	0.12	80.41	2.85
86.5	20	0.11	-	-
96.5	20	0.11	96.41	2.85
104.5	20	0.11	104.41	2.85
110.5	20	0.11	-	-
120.5	20	0.11	-	-
128.5	20	0.11	-	-
134.5	20	0.11	-	-
144.5	20	0.11	-	-
152.5	20	0.11	-	-
158.5	20	0.10	-	-
168.5	20	0.10	168.41	2.85
176.5	20	0.10	176.41	2.85
182.5	20	0.10	-	-
192.5	20	0.10	192.41	2.86
200.5	20	0.10	200.41	2.85
206.5	20	0.10	-	-
216.5	20	0.10	216.41	2.85
224.5	20	0.10	224.41	2.65
230.5	20	0.13	-	-
240.5	20	0.13	240.41	2.85
248.5	20	0.13	248.41	2.86
254.5	20	0.13	-	-
264.5	20	0.13	264.41	2.85
272.5	20	0.13	272.41	2.85
278.5	20	0.13	-	-
288.5	20	0.13	-	-
296.5	20	0.13	-	-
302.5	20	0.13	-	-
312.5	20	0.13	-	-
320.5	20	0.13	-	-
326.5	20	0.13	-	-
336.5	20	0.13	-	-
-	-	-	338.5	10.19
-	-	-	340.5	7.35
-	-	-	342.5	5.24

Tabla. 6. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 6.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.13	-	-
7.5	20	0.13	7.41	2.08
14.5	20	0.13	-	-
23.75	20	0.13	23.66	2.57
31.75	20	0.13	31.66	2.76
38.75	20	0.08	-	-
48	20	0.08	47.91	5.18
56	20	0.08	55.91	5.14
62	20	0.08	-	-
72.5	20	0.08	72.41	6.81
80.5	20	0.08	80.41	6.81
86.5	20	0.08	-	-
96.5	20	0.08	96.41	6.28
104.5	20	0.08	104.41	6.28
110.5	20	0.08	-	-
120.5	20	0.08	-	-
128.5	20	0.08	-	-
134.5	20	0.08	-	-
144.5	20	0.08	-	-
152.5	20	0.08	-	-
158.5	20	0.08	-	-
168.5	20	0.08	168.41	6.81
176.5	20	0.08	176.41	6.35
182.5	20	0.08	-	-
192.5	20	0.08	192.41	6.35
200.5	20	0.08	200.41	6.81
206.5	20	0.08	-	-
216.5	20	0.08	216.41	6.81
224.5	20	0.08	224.41	6.81
230.5	20	0.08	-	-
240.5	20	0.08	240.41	6.35
248.5	20	0.08	248.41	6.81
254.5	20	0.08	-	-
264.5	20	0.08	264.41	6.35
272.5	20	0.08	272.41	6.35
278.5	20	0.08	-	-
288.5	20	0.08	-	-
296.5	20	0.08	-	-
302.5	20	0.08	-	-
312.5	20	0.08	-	-
320.5	20	0.08	-	-
326.5	20	0.08	-	-
336.5	20	0.08	-	-
-	-	-	338.5	22.52
-	-	-	340.5	13.59
-	-	-	342.5	9.66

Tabla. 7. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 7.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	1.27
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	1.36
31.75	20	0.12	31.66	1.58
38.75	20	0.09	-	-
48	20	0.09	47.91	1.96
56	20	0.09	55.91	2.10
62	20	0.09	-	-
72.5	20	0.09	72.41	2.20
80.5	20	0.09	80.41	2.67
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	3.39
104.5	20	0.10	104.41	3.65
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.11	-	-
168.5	20	0.11	168.41	4.64
176.5	20	0.11	176.41	4.64
182.5	20	0.11	-	-
192.5	20	0.11	192.41	4.75
200.5	20	0.11	200.41	4.77
206.5	20	0.11	-	-
216.5	20	0.11	216.41	4.42
224.5	20	0.11	224.41	4.64
230.5	20	0.11	-	-
240.5	20	0.11	240.41	4.64
248.5	20	0.11	248.41	4.75
254.5	20	0.11	-	-
264.5	20	0.11	264.41	4.53
272.5	20	0.11	272.41	4.53
278.5	20	0.11	-	-
288.5	20	0.11	-	-
296.5	20	0.11	-	-
302.5	20	0.11	-	-
312.5	20	0.11	-	-
320.5	20	0.11	-	-
326.5	20	0.11	-	-
336.5	20	0.11	-	-
-	-	-	338.5	22.15
-	-	-	340.5	10.77
-	-	-	342.5	6.98

Tabla. 8. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 8.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.95
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	1.18
31.75	20	0.12	31.66	1.48
38.75	20	0.11	-	-
48	20	0.11	47.91	1.96
56	20	0.11	55.91	2.11
62	20	0.11	-	-
72.5	20	0.11	72.41	3.40
80.5	20	0.11	80.41	3.66
86.5	20	0.12	-	-
96.5	20	0.12	96.41	3.40
104.5	20	0.12	104.41	3.66
110.5	20	0.12	-	-
120.5	20	0.12	-	-
128.5	20	0.12	-	-
134.5	20	0.12	-	-
144.5	20	0.12	-	-
152.5	20	0.12	-	-
158.5	20	0.12	-	-
168.5	20	0.12	168.41	3.40
176.5	20	0.12	176.41	3.66
182.5	20	0.12	-	-
192.5	20	0.12	192.41	3.66
200.5	20	0.12	200.41	3.43
206.5	20	0.12	-	-
216.5	20	0.12	216.41	3.40
224.5	20	0.12	224.41	3.66
230.5	20	0.12	-	-
240.5	20	0.12	240.41	3.43
248.5	20	0.12	248.41	3.66
254.5	20	0.12	-	-
264.5	20	0.12	-	-
272.5	20	0.12	272.41	3.66
278.5	20	0.12	-	-
288.5	20	0.12	-	-
296.5	20	0.12	-	-
302.5	20	0.12	-	-
312.5	20	0.12	-	-
320.5	20	0.12	-	-
326.5	20	0.12	-	-
336.5	20	0.12	-	-
-	-	-	338.5	21.10
-	-	-	340.5	6.99
-	-	-	342.5	5.38

Tabla. 9. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 9.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.14	-	-
7.5	20	0.14	7.41	1.15
14.5	20	0.14	-	-
23.75	20	0.14	23.66	1.30
31.75	20	0.14	31.66	1.34
38.75	20	0.08	-	-
48	20	0.08	47.91	1.38
56	20	0.08	-	-
62	20	0.08	-	-
72.5	20	0.08	72.41	2.45
80.5	20	0.08	-	-
86.5	20	0.11	-	-
96.5	20	0.11	96.41	3.12
104.5	20	0.11	104.41	3.52
110.5	20	0.11	-	-
120.5	20	0.11	-	-
128.5	20	0.11	-	-
134.5	20	0.11	-	-
144.5	20	0.11	-	-
152.5	20	0.11	-	-
158.5	20	0.10	-	-
168.5	20	0.10	168.41	3.31
176.5	20	0.10	176.41	3.52
182.5	20	0.10	-	-
192.5	20	0.10	192.41	3.52
200.5	20	0.10	200.41	3.31
206.5	20	0.10	-	-
216.5	20	0.10	216.41	3.52
224.5	20	0.10	-	-
230.5	20	0.10	-	-
240.5	20	0.10	240.41	3.52
248.5	20	0.10	248.41	3.52
254.5	20	0.10	-	-
264.5	20	0.10	264.41	3.31
272.5	20	0.10	272.41	3.52
278.5	20	0.10	-	-
288.5	20	0.10	-	-
296.5	20	0.10	-	-
302.5	20	0.10	-	-
312.5	20	0.10	-	-
320.5	20	0.10	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	22.45
-	-	-	340.5	8.227
-	-	-	342.5	6.11

Tabla. 10. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 10.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.13	-	-
7.5	20	0.13	7.41	0.76
14.5	20	0.13	-	-
23.75	20	0.13	23.66	0.95
31.75	20	0.13	31.66	1.10
38.75	20	0.14	-	-
48	20	0.14	47.91	1.30
56	20	0.14	55.91	1.85
62	20	0.14	-	-
72.5	20	0.14	72.41	2.49
80.5	20	0.14	80.41	3.35
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	4.90
104.5	20	0.10	104.41	5.24
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.02	-	-
168.5	20	0.02	168.41	7.87
176.5	20	0.02	176.41	7.87
182.5	20	0.02	-	-
192.5	20	0.02	192.41	7.87
200.5	20	0.02	200.41	8.46
206.5	20	0.02	-	-
216.5	20	0.02	216.41	7.60
224.5	20	0.02	224.41	7.60
230.5	20	0.009	-	-
240.5	20	0.009	240.41	7.60

Tabla. 11. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 11.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.14	-	-
7.5	20	0.14	7.41	0.65
14.5	20	0.14	-	-
23.75	20	0.14	23.66	0.70
31.75	20	0.14	31.66	0.76
38.75	20	0.18	-	-
48	20	0.18	47.91	1.00
56	20	0.18	55.91	1.22
62	20	0.18	-	-
72.5	20	0.18	72.41	1.38
80.5	20	0.18	80.41	1.38
86.5	20	0.16	-	-
96.5	20	0.16	96.41	1.38
104.5	20	0.16	104.41	1.35
110.5	20	0.16	-	-
120.5	20	0.16	-	-
128.5	20	0.16	-	-
134.5	20	0.16	-	-
144.5	20	0.16	-	-
152.5	20	0.16	-	-
158.5	20	0.17	-	-
168.5	20	0.17	168.41	1.44
176.5	20	0.17	176.41	1.44
182.5	20	0.17	-	-
192.5	20	0.17	192.41	1.44
200.5	20	0.17	200.41	1.44
206.5	20	0.17	-	-
216.5	20	0.17	216.41	1.60
224.5	20	0.17	224.41	1.52
230.5	20	0.17	-	-
240.5	20	0.17	240.41	1.52
248.5	20	0.17	248.41	1.52
254.5	20	0.17	-	-
264.5	20	0.17	264.41	1.64
272.5	20	0.17	272.41	1.62
278.5	20	0.17	-	-
288.5	20	0.17	-	-
296.5	20	0.17	-	-
302.5	20	0.17	-	-
312.5	20	0.17	-	-
320.5	20	0.17	-	-
326.5	20	0.18	-	-
336.5	20	0.18	-	-
-	-	-	338.5	6.37
-	-	-	340.5	3.06
-	-	-	342.5	1.99

Tabla. 12. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 13.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.11	-	-
7.5	20	0.11	7.41	0.65
14.5	20	0.11	-	-
23.75	20	0.11	23.66	0.76
31.75	20	0.11	31.66	0.82
38.75	20	0.13	-	-
48	20	0.13	47.91	1.38
56	20	0.13	55.91	1.46
62	20	0.13	-	-
72.5	20	0.13	72.41	1.64
80.5	20	0.13	80.41	1.85
86.5	20	0.12	-	-
96.5	20	0.12	96.41	1.90
104.5	20	0.12	104.41	1.90
110.5	20	0.12	-	-
120.5	20	0.12	-	-
128.5	20	0.12	-	-
134.5	20	0.12	-	-
144.5	20	0.12	-	-
152.5	20	0.12	-	-
158.5	20	0.06	-	-
168.5	20	0.06	168.41	1.90
176.5	20	0.06	176.41	1.90
182.5	20	0.06	-	-
192.5	20	0.06	192.41	1.90
200.5	20	0.06	200.41	1.99
206.5	20	0.06	-	-
216.5	20	0.06	216.41	1.99
224.5	20	0.06	224.41	1.99
230.5	20	0.05	-	-
240.5	20	0.05	240.41	1.99
248.5	20	0.05	248.41	1.99
254.5	20	0.05	-	-
264.5	20	0.05	264.41	1.99
272.5	20	0.05	272.41	1.99
278.5	20	0.05	-	-
288.5	20	0.05	-	-
296.5	20	0.05	-	-
302.5	20	0.05	-	-
312.5	20	0.05	-	-
320.5	20	0.05	-	-
326.5	20	0.09	-	-
336.5	20	0.09	-	-
-	-	-	338.5	5.97
-	-	-	340.5	3.49
-	-	-	342.5	2.76

Tabla. 13. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 14.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	-	-
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	-	-
31.75	20	0.12	31.66	0.65
38.75	20	0.15	-	-
48	20	0.15	47.91	1.38
56	20	0.15	55.91	1.46
62	20	0.15	-	-
72.5	20	0.15	72.41	1.55
80.5	20	0.15	80.41	1.85
86.5	20	0.17	-	-
96.5	20	0.17	96.41	2.03
104.5	20	0.17	104.41	2.17
110.5	20	0.17	-	-
120.5	20	0.17	-	-
128.5	20	0.17	-	-
134.5	20	0.17	-	-
144.5	20	0.17	-	-
152.5	20	0.17	-	-
158.5	20	0.09	-	-
168.5	20	0.09	168.41	2.17
176.5	20	0.09	176.41	2.03
182.5	20	0.09	-	-
192.5	20	0.09	192.41	2.10
200.5	20	0.09	200.41	2.03
206.5	20	0.09	-	-
216.5	20	0.09	216.41	2.10
224.5	20	0.09	224.41	2.21
230.5	20	0.02	-	-
240.5	20	0.02	240.41	2.10
248.5	20	0.02	248.41	2.21
254.5	20	0.02	-	-

Tabla. 14. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 15.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.10	-	-
7.5	20	0.10	7.41	0.65
14.5	20	0.10	-	-
23.75	20	0.10	23.66	0.70
31.75	20	0.10	31.66	0.76
38.75	20	0.11	-	-
48	20	0.11	47.91	1.85
56	20	0.11	55.91	1.96
62	20	0.11	-	-
72.5	20	0.11	72.41	2.08
80.5	20	0.11	80.41	2.35
86.5	20	0.14	-	-
96.5	20	0.14	96.41	2.48
104.5	20	0.14	104.41	2.66
110.5	20	0.14	-	-
120.5	20	0.14	-	-
128.5	20	0.14	-	-
134.5	20	0.14	-	-
144.5	20	0.14	-	-
152.5	20	0.14	-	-
158.5	20	0.05	-	-
168.5	20	0.05	168.41	2.48
176.5	20	0.05	176.41	2.48
182.5	20	0.05	-	-
192.5	20	0.05	192.41	2.66
200.5	20	0.05	200.41	2.60
206.5	20	0.05	-	-
216.5	20	0.05	216.41	2.60
224.5	20	0.05	224.41	2.74
230.5	20	0.08	-	-
240.5	20	0.08	240.41	2.74
248.5	20	0.08	248.41	2.60
254.5	20	0.08	-	-
264.5	20	0.08	264.41	2.58
272.5	20	0.08	272.41	2.52
278.5	20	0.08	-	-
288.5	20	0.08	-	-
296.5	20	0.08	-	-
302.5	20	0.08	-	-
312.5	20	0.08	-	-
320.5	20	0.08	-	-
326.5	20	0.02	-	-
336.5	20	0.02	-	-
-	-	-	338.5	10.10
-	-	-	340.5	5.17
-	-	-	342.5	3.59

Tabla. 15. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 16.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.11	-	-
7.5	20	0.11	7.41	0.65
14.5	20	0.11	-	-
23.75	20	0.11	23.66	0.76
31.75	20	0.11	31.66	1.10
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.12	47.91	1.85
56	20	0.12	55.91	2.21
62	20	0.12	-	-
72.5	20	0.12	72.41	2.35
80.5	20	0.12	80.41	2.64
86.5	20	0.16	-	-
96.5	20	0.16	96.41	2.85
104.5	20	0.16	104.41	2.85
110.5	20	0.16	-	-
120.5	20	0.16	-	-
128.5	20	0.16	-	-
134.5	20	0.16	-	-
144.5	20	0.16	-	-
152.5	20	0.16	-	-
158.5	20	0.10	-	-
168.5	20	0.10	168.41	2.85
176.5	20	0.10	176.41	2.85
182.5	20	0.10	-	-
192.5	20	0.10	192.41	2.85
200.5	20	0.10	200.41	2.85
206.5	20	0.10	-	-
216.5	20	0.10	216.41	2.90
224.5	20	0.10	224.41	2.90
230.5	20	0.14	-	-
240.5	20	0.14	240.41	2.90
248.5	20	0.14	248.41	3.04
254.5	20	0.14	-	-
264.5	20	0.14	264.41	2.80
272.5	20	0.14	272.41	2.84
278.5	20	0.14	-	-
288.5	20	0.14	-	-
296.5	20	0.14	-	-
302.5	20	0.14	-	-
312.5	20	0.14	-	-
320.5	20	0.14	-	-
326.5	20	0.09	-	-
336.5	20	0.09	-	-
-	-	-	338.5	11.52
-	-	-	340.5	5.53
-	-	-	342.5	4.38

Tabla. 16. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 17.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.65
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	0.76
31.75	20	0.12	31.66	0.95
38.75	20	0.12	-	-
48	20	0.12	47.91	1.30
56	20	0.12	55.91	1.75
62	20	0.12	-	-
72.5	20	0.12	72.41	2.21
80.5	20	0.12	80.41	2.64
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	2.48
104.5	20	0.10	104.41	2.48
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.11	-	-
168.5	20	0.11	168.41	2.66
176.5	20	0.11	176.41	2.66
182.5	20	0.11	-	-
192.5	20	0.11	192.41	2.48
200.5	20	0.11	200.41	2.60
206.5	20	0.11	-	-
216.5	20	0.11	216.41	2.74
224.5	20	0.11	224.41	2.60
230.5	20	0.11	-	-
240.5	20	0.11	240.41	2.60
248.5	20	0.11	248.41	2.74
254.5	20	0.11	-	-
264.5	20	0.11	264.41	2.67
272.5	20	0.11	272.41	2.67
278.5	20	0.11	-	-
288.5	20	0.11	-	-
296.5	20	0.11	-	-
302.5	20	0.11	-	-
312.5	20	0.11	-	-
320.5	20	0.11	-	-
326.5	20	0.11	-	-
336.5	20	0.11	-	-
-	-	-	338.5	7.76
-	-	-	340.5	4.54
-	-	-	342.5	3.15

Tabla. 17. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 18.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.10	-	-
7.5	20	0.10	7.41	0.51
14.5	20	0.10	-	-
23.75	20	0.10	23.66	0.77
31.75	20	0.10	31.66	0.94
38.75	20	0.08	-	-
48	20	0.08	47.91	0.88
56	20	0.08	55.91	0.94
62	20	0.08	-	-
72.5	20	0.08	72.41	0.94
80.5	20	0.08	80.41	1.52
86.5	20	0.12	-	-
96.5	20	0.12	96.41	1.54
104.5	20	0.12	104.41	1.69
110.5	20	0.12	-	-
120.5	20	0.12	-	-
128.5	20	0.12	-	-
134.5	20	0.12	-	-
144.5	20	0.12	-	-
152.5	20	0.12	-	-
158.5	20	0.12	-	-
168.5	20	0.12	168.41	1.89
176.5	20	0.12	176.41	1.89
182.5	20	0.12	-	-
192.5	20	0.12	192.41	1.89
200.5	20	0.12	-	-
206.5	20	0.12	-	-
216.5	20	0.12	216.41	1.89
224.5	20	0.12	224.41	1.89
230.5	20	0.12	-	-
240.5	20	0.12	240.41	1.89
248.5	20	0.12	248.41	1.89
254.5	20	0.12	-	-
264.5	20	0.12	264.41	1.90
272.5	20	0.12	272.41	1.90
278.5	20	0.12	-	-
288.5	20	0.12	-	-
296.5	20	0.12	-	-
302.5	20	0.12	-	-
312.5	20	0.12	-	-
320.5	20	0.12	-	-
326.5	20	0.12	-	-
336.5	20	0.12	-	-
-	-	-	338.5	9.99
-	-	-	340.5	5.62
-	-	-	342.5	4.28

Tabla. 18. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 19.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.10	-	-
7.5	20	0.10	7.41	1.32
14.5	20	0.10	-	-
23.75	20	0.10	23.66	1.80
31.75	20	0.10	31.66	1.91
38.75	20	0.07	-	-
48	20	0.07	47.91	2.04
56	20	0.07	-	-
62	20	0.07	-	-
72.5	20	0.07	-	-
80.5	20	0.07	80.41	2.04
86.5	20	0.07	-	-
96.5	20	0.07	96.41	2.04
104.5	20	0.07	104.41	2.04
110.5	20	0.07	-	-
120.5	20	0.07	-	-
128.5	20	0.07	-	-
134.5	20	0.07	-	-
144.5	20	0.07	-	-
152.5	20	0.07	-	-
158.5	20	0.07	-	-
168.5	20	0.07	168.41	2.19
176.5	20	0.07	176.41	2.33
182.5	20	0.07	-	-
192.5	20	0.07	192.41	2.19
200.5	20	0.07	-	2.19
206.5	20	0.07	-	-
216.5	20	0.07	216.41	2.19
224.5	20	0.07	224.41	2.19
230.5	20	0.07	-	-
240.5	20	0.07	-	-
248.5	20	0.07	248.41	2.19
254.5	20	0.07	-	-
264.5	20	0.07	264.41	2.19
272.5	20	0.07	272.41	2.19
278.5	20	0.07	-	-
288.5	20	0.07	-	-
296.5	20	0.07	-	-
302.5	20	0.07	-	-
312.5	20	0.07	-	-
320.5	20	0.07	-	-
326.5	20	0.07	-	-
336.5	20	0.07	-	-
-	-	-	338.5	9.20
-	-	-	340.5	6.58
-	-	-	342.5	4.91

Tabla. 19. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 20.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.14	-	-
7.5	20	0.14	7.41	0.72
14.5	20	0.14	-	-
23.75	20	0.14	23.66	0.80
31.75	20	0.14	31.66	0.86
38.75	20	0.15	-	-
48	20	0.15	47.91	1.72
56	20	0.15	55.91	2.52
62	20	0.15	-	-
72.5	20	0.15	72.41	2.33
80.5	20	0.15	80.41	2.52
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	2.52
104.5	20	0.10	104.41	2.52
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.10	-	-
168.5	20	0.10	-	-
176.5	20	0.10	-	-
182.5	20	0.10	-	-
192.5	20	0.10	192.41	2.33
200.5	20	0.10	200.41	2.33
206.5	20	0.10	-	-
216.5	20	0.10	216.41	2.33
224.5	20	0.10	224.41	2.33
230.5	20	0.10	-	-
240.5	20	0.10	240.41	2.35
248.5	20	0.10	248.41	2.52
254.5	20	0.10	-	-
264.5	20	0.10	264.41	2.52
272.5	20	0.10	272.41	2.52
278.5	20	0.10	-	-
288.5	20	0.10	-	-
296.5	20	0.10	-	-
302.5	20	0.10	-	-
312.5	20	0.10	-	-
320.5	20	0.10	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	13.80
-	-	-	340.5	5.87
-	-	-	342.5	4.31

Tabla. 20. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 21.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.24	-	-
7.5	20	0.24	7.41	0.68
14.5	20	0.24	-	-
23.75	20	0.24	23.66	0.89
31.75	20	0.24	31.66	1.34
38.75	20	0.18	-	-
48	20	0.18	47.91	1.34
56	20	0.18	55.91	1.78
62	20	0.18	-	-
72.5	20	0.18	72.41	1.78
80.5	20	0.18	80.41	1.86
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	1.78
104.5	20	0.10	104.41	1.78
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.10	-	-
168.5	20	0.10	168.41	1.67
176.5	20	0.10	176.41	1.78
182.5	20	0.10	-	-
192.5	20	0.10	192.41	1.67
200.5	20	0.10	200.41	1.78
206.5	20	0.10	-	-
216.5	20	0.10	216.41	1.67
224.5	20	0.10	-	-
230.5	20	0.10	-	-
240.5	20	0.10	240.41	1.67
248.5	20	0.10	248.41	1.67
254.5	20	0.10	-	-
264.5	20	0.10	264.41	1.67
272.5	20	0.10	272.41	1.67
278.5	20	0.10	-	-
288.5	20	0.10	-	-
296.5	20	0.10	-	-
302.5	20	0.10	-	-
312.5	20	0.10	-	-
320.5	20	0.10	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	9.60
-	-	-	340.5	5.66
-	-	-	342.5	3.77

Tabla. 21. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 22.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.14	-	-
7.5	20	0.14	7.41	0.66
14.5	20	0.14	-	-
23.75	20	0.14	23.66	0.70
31.75	20	0.14	31.66	1.76
38.75	20	0.13	-	-
48	20	0.13	47.91	2.01
56	20	0.13	55.91	2.38
62	20	0.13	-	-
72.5	20	0.13	72.41	2.23
80.5	20	0.13	80.41	2.23
86.5	20	0.08	-	-
96.5	20	0.08	96.41	2.23
104.5	20	0.08	104.41	2.23
110.5	20	0.08	-	-
120.5	20	0.08	-	-
128.5	20	0.08	-	-
134.5	20	0.08	-	-
144.5	20	0.08	-	-
152.5	20	0.08	-	-
158.5	20	0.08	-	-
168.5	20	0.08	168.41	2.23
176.5	20	0.08	176.41	2.23
182.5	20	0.08	-	-
192.5	20	0.08	192.41	2.38
200.5	20	0.08	200.41	2.23
206.5	20	0.08	-	-
216.5	20	0.08	216.41	2.23
224.5	20	0.08	224.41	2.23
230.5	20	0.08	-	-
240.5	20	0.08	240.41	2.23
248.5	20	0.08	248.41	2.38
254.5	20	0.08	-	-
264.5	20	0.08	264.41	2.23
272.5	20	0.08	-	-
278.5	20	0.08	-	-
288.5	20	0.08	-	-
296.5	20	0.08	-	-
302.5	20	0.08	-	-
312.5	20	0.08	-	-
320.5	20	0.08	-	-
326.5	20	0.08	-	-
336.5	20	0.08	-	-
-	-	-	338.5	9.03
-	-	-	340.5	6.77
-	-	-	342.5	5.20

Tabla. 22. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 23.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.11	-	-
7.5	20	0.11	7.41	0.93
14.5	20	0.11	-	-
23.75	20	0.11	23.66	1.28
31.75	20	0.11	31.66	1.62
38.75	20	0.11	-	-
48	20	0.11	47.91	2.14
56	20	0.11	55.91	2.48
62	20	0.11	-	-
72.5	20	0.11	72.41	2.82
80.5	20	0.11	80.41	2.91
86.5	20	0.13	-	-
96.5	20	0.13	96.41	3.01
104.5	20	0.13	104.41	3.57
110.5	20	0.13	-	-
120.5	20	0.13	-	-
128.5	20	0.13	-	-
134.5	20	0.13	-	-
144.5	20	0.13	-	-
152.5	20	0.13	-	-
158.5	20	0.16	-	-
168.5	20	0.16	168.41	3.96
176.5	20	0.16	176.41	4.15
182.5	20	0.16	-	-
192.5	20	0.16	192.41	4.23
200.5	20	0.16	200.41	3.96
206.5	20	0.16	-	-
216.5	20	0.16	216.41	3.96
224.5	20	0.16	224.41	3.96
230.5	20	0.12	-	-
240.5	20	0.12	240.41	3.85
248.5	20	0.12	248.41	4.02
254.5	20	0.12	-	-
264.5	20	0.12	264.41	4.02
272.5	20	0.12	272.41	4.02
278.5	20	0.12	-	-
288.5	20	0.12	-	-
296.5	20	0.12	-	-
302.5	20	0.12	-	-
312.5	20	0.12	-	-
320.5	20	0.12	-	-
326.5	20	0.13	-	-
336.5	20	0.13	-	-
-	-	-	338.5	12.29
-	-	-	340.5	8.19
-	-	-	342.5	6.91

Tabla. 23. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 25.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.13	-	-
7.5	20	0.13	7.41	0.43
14.5	20	0.13	-	-
23.75	20	0.13	23.66	0.54
31.75	20	0.13	31.66	0.56
38.75	20	0.23	-	-
48	20	0.23	47.91	1.22
56	20	0.23	55.91	1.85
62	20	0.23	-	-
72.5	20	0.23	72.41	2.15
80.5	20	0.23	80.41	2.28
86.5	20	0.15	-	-
96.5	20	0.15	96.41	2.82
104.5	20	0.15	104.41	3.09
110.5	20	0.15	-	-
120.5	20	0.15	-	-
128.5	20	0.15	-	-
134.5	20	0.15	-	-
144.5	20	0.15	-	-
152.5	20	0.15	-	-
158.5	20	0.15	-	-
168.5	20	0.15	168.41	3.09
176.5	20	0.15	176.41	3.17
182.5	20	0.15	-	-
192.5	20	0.15	192.41	3.36
200.5	20	0.15	200.41	3.36
206.5	20	0.15	-	-
216.5	20	0.15	216.41	3.56
224.5	20	0.15	224.41	3.36
230.5	20	0.15	-	-
240.5	20	0.15	240.41	3.31
248.5	20	0.15	248.41	3.46
254.5	20	0.15	-	-
264.5	20	0.15	264.41	3.31
272.5	20	0.15	272.41	3.31
278.5	20	0.15	-	-
288.5	20	0.15	-	-
296.5	20	0.15	-	-
302.5	20	0.15	-	-
312.5	20	0.15	-	-
320.5	20	0.15	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	10.79
-	-	-	340.5	7.19
-	-	-	342.5	5.32

Tabla. 24. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 26.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.16	-	-
7.5	20	0.16	7.41	0.93
14.5	20	0.16	-	-
23.75	20	0.16	23.66	1.45
31.75	20	0.16	31.66	2.15
38.75	20	0.18	-	-
48	20	0.18	47.91	2.55
56	20	0.18	55.91	2.85
62	20	0.18	-	-
72.5	20	0.18	72.41	3.02
80.5	20	0.18	80.41	3.09
86.5	20	0.21	-	-
96.5	20	0.21	96.41	3.65
104.5	20	0.21	104.41	3.73
110.5	20	0.21	-	-
120.5	20	0.21	-	-
128.5	20	0.21	-	-
134.5	20	0.21	-	-
144.5	20	0.21	-	-
152.5	20	0.21	-	-
158.5	20	0.14	-	-
168.5	20	0.14	168.41	3.73
176.5	20	0.14	176.41	3.70
182.5	20	0.14	-	-
192.5	20	0.14	192.41	3.92
200.5	20	0.14	200.41	3.92
206.5	20	0.14	-	-
216.5	20	0.14	216.41	3.92
224.5	20	0.14	224.41	3.92
230.5	20	0.15	-	-
240.5	20	0.15	240.41	3.85
248.5	20	0.15	248.41	4.02
254.5	20	0.15	-	-
264.5	20	0.15	264.41	4.02
272.5	20	0.15	272.41	4.02
278.5	20	0.15	-	-
288.5	20	0.15	-	-
296.5	20	0.15	-	-
302.5	20	0.15	-	-
312.5	20	0.15	-	-
320.5	20	0.15	-	-
326.5	20	0.01	-	-
336.5	20	0.01	-	-
-	-	-	338.5	12.70
-	-	-	340.5	8.37
-	-	-	342.5	6.91

Tabla. 25. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 27.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.14	-	-
7.5	20	0.14	7.41	0.41
14.5	20	0.14	-	-
23.75	20	0.14	23.66	0.48
31.75	20	0.14	31.66	0.79
38.75	20	0.19	-	-
48	20	0.19	47.91	1.23
56	20	0.19	55.91	1.92
62	20	0.19	-	-
72.5	20	0.19	72.41	2.02
80.5	20	0.19	80.41	2.81
86.5	20	0.08	-	-
96.5	20	0.08	96.41	3.22
104.5	20	0.08	104.41	3.45
110.5	20	0.08	-	-
120.5	20	0.08	-	-
128.5	20	0.08	-	-
134.5	20	0.08	-	-
144.5	20	0.08	-	-
152.5	20	0.08	-	-
158.5	20	0.13	-	-
168.5	20	0.13	168.41	4.24
176.5	20	0.13	176.41	4.65
182.5	20	0.13	-	-
192.5	20	0.13	192.41	4.92
200.5	20	0.13	200.41	4.92
206.5	20	0.13	-	-
216.5	20	0.13	216.41	4.65
224.5	20	0.13	224.41	4.92
230.5	20	0.05	-	-
240.5	20	0.05	240.41	4.88
248.5	20	0.05	248.41	4.98
254.5	20	0.05	-	-
264.5	20	0.05	264.41	4.98
272.5	20	0.05	272.41	4.88
278.5	20	0.05	-	-
288.5	20	0.05	-	-
296.5	20	0.05	-	-
302.5	20	0.05	-	-
312.5	20	0.05	-	-
320.5	20	0.05	-	-
326.5	20	0.04	-	-
336.5	20	0.04	-	-
-	-	-	338.5	19.01
-	-	-	340.5	9.97
-	-	-	342.5	6.91

Tabla. 26. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 28.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.15	-	-
7.5	20	0.15	7.41	0.41
14.5	20	0.15	-	-
23.75	20	0.15	23.66	0.57
31.75	20	0.15	31.66	0.79
38.75	20	0.14	-	-
48	20	0.14	47.91	0.93
56	20	0.14	55.91	1.17
62	20	0.14	-	-
72.5	20	0.14	72.41	1.54
80.5	20	0.14	80.41	1.99
86.5	20	0.22	-	-
96.5	20	0.22	96.41	2.45
104.5	20	0.22	104.41	2.81
110.5	20	0.22	-	-
120.5	20	0.22	-	-
128.5	20	0.22	-	-
134.5	20	0.22	-	-
144.5	20	0.22	-	-
152.5	20	0.22	-	-
158.5	20	0.17	-	-
168.5	20	0.17	168.41	3.01
176.5	20	0.17	176.41	3.12
182.5	20	0.17	-	-
192.5	20	0.17	192.41	3.12
200.5	20	0.17	200.41	3.01
206.5	20	0.17	-	-
216.5	20	0.17	216.41	3.12
224.5	20	0.17	224.41	3.12
230.5	20	0.15	-	-
240.5	20	0.15	240.41	3.10
248.5	20	0.15	248.41	3.09
254.5	20	0.15	-	-
264.5	20	0.15	264.41	3.24
272.5	20	0.15	272.41	3.10
278.5	20	0.15	-	-
288.5	20	0.15	-	-
296.5	20	0.15	-	-
302.5	20	0.15	-	-
312.5	20	0.15	-	-
320.5	20	0.15	-	-
326.5	20	0.12	-	-
336.5	20	0.12	-	-
-	-	-	338.5	10.79
-	-	-	340.5	7.35
-	-	-	342.5	4.98

Tabla. 27. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 29.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.15	-	-
7.5	20	0.15	7.41	0.99
14.5	20	0.15	-	-
23.75	20	0.15	23.66	1.23
31.75	20	0.15	31.66	1.72
38.75	20	0.18	-	-
48	20	0.18	47.91	1.81
56	20	0.18	55.91	2.14
62	20	0.18	-	-
72.5	20	0.18	72.41	2.39
80.5	20	0.18	80.41	2.45
86.5	20	0.14	-	-
96.5	20	0.14	96.41	2.81
104.5	20	0.14	104.41	3.01
110.5	20	0.14	-	-
120.5	20	0.14	-	-
128.5	20	0.14	-	-
134.5	20	0.14	-	-
144.5	20	0.14	-	-
152.5	20	0.14	-	-
158.5	20	0.07	-	-
168.5	20	0.07	168.41	3.45
176.5	20	0.07	176.41	3.70
182.5	20	0.07	-	-
192.5	20	0.07	192.41	3.70
200.5	20	0.07	200.41	3.70
206.5	20	0.07	-	-
216.5	20	0.07	216.41	3.70
224.5	20	0.07	224.41	3.70
230.5	20	0.07	-	-
240.5	20	0.07	240.41	3.77
248.5	20	0.07	248.41	3.69
254.5	20	0.07	-	-
264.5	20	0.07	264.41	3.77
272.5	20	0.07	272.41	3.62
278.5	20	0.07	-	-
288.5	20	0.07	-	-
296.5	20	0.07	-	-
302.5	20	0.07	-	-
312.5	20	0.07	-	-
320.5	20	0.07	-	-
326.5	20	0.02	-	-
336.5	20	0.02	-	-
-	-	-	338.5	11.02
-	-	-	340.5	6.73
-	-	-	342.5	5.09

Tabla. 28. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 30.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.10	-	-
7.5	20	0.10	7.41	0.43
14.5	20	0.10	-	-
23.75	20	0.10	23.66	0.54
31.75	20	0.10	31.66	0.71
38.75	20	0.23	-	-
48	20	0.23	47.91	0.93
56	20	0.23	55.91	1.23
62	20	0.23	-	-
72.5	20	0.23	72.41	1.62
80.5	20	0.23	80.41	1.99
86.5	20	0.20	-	-
96.5	20	0.20	96.41	2.62
104.5	20	0.20	104.41	2.81
110.5	20	0.20	-	-
120.5	20	0.20	-	-
128.5	20	0.20	-	-
134.5	20	0.20	-	-
144.5	20	0.20	-	-
152.5	20	0.20	-	-
158.5	20	0.17	-	-
168.5	20	0.17	168.41	2.81
176.5	20	0.17	176.41	2.78
182.5	20	0.17	-	-
192.5	20	0.17	192.41	2.78
200.5	20	0.17	200.41	2.78
206.5	20	0.17	-	-
216.5	20	0.17	216.41	2.78
224.5	20	0.17	224.41	2.78
230.5	20	0.15	-	-
240.5	20	0.15	240.41	2.73
248.5	20	0.15	248.41	2.73
254.5	20	0.15	-	-
264.5	20	0.15	264.41	2.79
272.5	20	0.15	272.41	2.73
278.5	20	0.15	-	-
288.5	20	0.15	-	-
296.5	20	0.15	-	-
302.5	20	0.15	-	-
312.5	20	0.15	-	-
320.5	20	0.15	-	-
326.5	20	0.10	-	-
336.5	20	0.10	-	-
-	-	-	338.5	7.78
-	-	-	340.5	5.18
-	-	-	342.5	4.09

Tabla. 29. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 31.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.15	-	-
7.5	20	0.15	7.41	0.93
14.5	20	0.15	-	-
23.75	20	0.15	23.66	1.10
31.75	20	0.15	31.66	1.45
38.75	20	0.17	-	-
48	20	0.17	47.91	1.54
56	20	0.17	55.91	1.62
62	20	0.17	-	-
72.5	20	0.17	72.41	1.92
80.5	20	0.17	80.41	1.99
86.5	20	0.17	-	-
96.5	20	0.17	96.41	2.45
104.5	20	0.17	104.41	2.81
110.5	20	0.17	-	-
120.5	20	0.17	-	-
128.5	20	0.17	-	-
134.5	20	0.17	-	-
144.5	20	0.17	-	-
152.5	20	0.17	-	-
158.5	20	0.12	-	-
168.5	20	0.12	168.41	3.22
176.5	20	0.12	176.41	3.60
182.5	20	0.12	-	-
192.5	20	0.12	192.41	3.50
200.5	20	0.12	200.41	3.70
206.5	20	0.12	-	-
216.5	20	0.12	216.41	3.70
224.5	20	0.12	224.41	3.70
230.5	20	0.13	-	-
240.5	20	0.13	240.41	3.77
248.5	20	0.13	248.41	3.77
254.5	20	0.13	-	-
264.5	20	0.13	264.41	3.85
272.5	20	0.13	272.41	3.77
278.5	20	0.13	-	-
288.5	20	0.13	-	-
296.5	20	0.13	-	-
302.5	20	0.13	-	-
312.5	20	0.13	-	-
320.5	20	0.13	-	-
326.5	20	0.12	-	-
336.5	20	0.12	-	-
-	-	-	338.5	11.51
-	-	-	340.5	7.67
-	-	-	342.5	5.09

Tabla. 30. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 32.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.17	-	-
7.5	20	0.17	7.41	0.39
14.5	20	0.17	-	-
23.75	20	0.17	23.66	0.48
31.75	20	0.17	31.66	0.71
38.75	20	0.14	-	-
48	20	0.14	47.91	0.93
56	20	0.14	55.91	1.23
62	20	0.14	-	-
72.5	20	0.14	72.41	1.54
80.5	20	0.14	-	-
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	1.62
104.5	20	0.10	104.41	1.73
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.12	-	-
168.5	20	0.12	168.41	2.13
176.5	20	0.12	176.41	2.15
182.5	20	0.12	-	-
192.5	20	0.12	192.41	2.22
200.5	20	0.12	200.41	2.22
206.5	20	0.12	-	-
216.5	20	0.12	216.41	2.22
224.5	20	0.12	224.41	2.15
230.5	20	0.09	-	-
240.5	20	0.09	240.41	2.25
248.5	20	0.09	248.41	2.25
254.5	20	0.09	-	-
264.5	20	0.09	264.41	2.30
272.5	20	0.09	272.41	2.25
278.5	20	0.09	-	-
288.5	20	0.09	-	-
296.5	20	0.09	-	-
302.5	20	0.09	-	-
312.5	20	0.09	-	-
320.5	20	0.09	-	-
326.5	20	0.09	-	-
336.5	20	0.09	-	-
-	-	-	338.5	7.95
-	-	-	340.5	5.30
-	-	-	342.5	3.89

Tabla. 31. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 33.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.16	-	-
7.5	20	0.16	7.41	0.76
14.5	20	0.16	-	-
23.75	20	0.16	23.66	1.10
31.75	20	0.16	31.66	1.23
38.75	20	0.13	-	-
48	20	0.13	47.91	2.06
56	20	0.13	55.91	2.52
62	20	0.13	-	-
72.5	20	0.13	72.41	2.82
80.5	20	0.13	80.41	3.22
86.5	20	0.23	-	-
96.5	20	0.23	96.41	3.96
104.5	20	0.23	104.41	5.58
110.5	20	0.23	-	-
120.5	20	0.23	-	-
128.5	20	0.23	-	-
134.5	20	0.23	-	-
144.5	20	0.23	-	-
152.5	20	0.23	-	-
158.5	20	0.01	-	-
168.5	20	0.01	168.41	5.58
176.5	20	0.01	176.41	5.51
182.5	20	0.01	-	-
192.5	20	0.01	192.41	5.51
200.5	20	0.01	200.41	5.51
206.5	20	0.01	-	-
216.5	20	0.01	216.41	5.55
224.5	20	0.01	224.41	5.55

Tabla. 32. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 34.

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.21	-	-
7.5	20	0.21	7.41	0.41
14.5	20	0.21	-	-
23.75	20	0.21	23.66	0.51
31.75	20	0.21	31.66	0.75
38.75	20	0.23	-	-
48	20	0.23	47.91	0.84
56	20	0.23	55.91	0.93
62	20	0.23	-	-
72.5	20	0.23	72.41	1.23
80.5	20	0.23	80.41	1.32
86.5	20	0.10	-	-
96.5	20	0.10	96.41	1.51
104.5	20	0.10	104.41	1.56
110.5	20	0.10	-	-
120.5	20	0.10	-	-
128.5	20	0.10	-	-
134.5	20	0.10	-	-
144.5	20	0.10	-	-
152.5	20	0.10	-	-
158.5	20	0.06	-	-
168.5	20	0.06	168.41	1.60
176.5	20	0.06	176.41	1.76
182.5	20	0.06	-	-
192.5	20	0.06	192.41	1.67
200.5	20	0.06	200.41	1.76
206.5	20	0.06	-	-
216.5	20	0.06	216.41	1.67
224.5	20	0.06	224.41	1.76
230.5	20	0.10	-	-
240.5	20	0.10	240.41	1.74
248.5	20	0.10	248.41	1.78
254.5	20	0.10	-	-
264.5	20	0.10	264.41	1.78
272.5	20	0.10	272.41	1.74
278.5	20	0.10	-	-
288.5	20	0.10	-	-
296.5	20	0.10	-	-
302.5	20	0.10	-	-
312.5	20	0.10	-	-
320.5	20	0.12	-	-
326.5	20	0.08	-	-
336.5	20	0.08	-	-
-	-	-	338.5	6.82
-	-	-	340.5	4.85
-	-	-	342.5	3.59

Tabla. 33. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 35.

ANEXO II

t administ. (h)	Dosis (mg)	ClCr (l/h)	t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
0	20	0.12	-	-
7.5	20	0.12	7.41	0.57
14.5	20	0.12	-	-
23.75	20	0.12	23.66	0.84
31.75	20	0.12	31.66	1.17
38.75	20	0.17	-	-
48	20	0.17	47.91	1.23
56	20	0.17	55.91	1.38
62	20	0.17	-	-
72.5	20	0.17	72.41	1.62
80.5	20	0.17	80.41	3.01
86.5	20	0.16	-	-
96.5	20	0.16	96.41	3.45
104.5	20	0.16	104.41	3.70
110.5	20	0.16	-	-
120.5	20	0.16	-	-
128.5	20	0.16	-	-
134.5	20	0.16	-	-
144.5	20	0.16	-	-
152.5	20	0.16	-	-
158.5	20	0.12	-	-
168.5	20	0.12	168.41	3.96
176.5	20	0.12	176.41	4.92
182.5	20	0.12	-	-
192.5	20	0.12	192.41	4.92
200.5	20	0.12	200.41	4.92
206.5	20	0.12	-	-
216.5	20	0.12	216.41	4.92
224.5	20	0.12	224.41	4.92
230.5	20	0.13	-	-
240.5	20	0.13	240.41	4.88
248.5	20	0.13	248.41	4.88
254.5	20	0.13	-	-
264.5	20	0.13	264.41	4.88
272.5	20	0.13	272.41	5.06
278.5	20	0.13	-	-
288.5	20	0.13	-	-
296.5	20	0.13	-	-
302.5	20	0.13	-	-
312.5	20	0.13	-	-
320.5	20	0.13	-	-
326.5	20	0.08	-	-
336.5	20	0.08	-	-
-	-	-	338.5	18.20
-	-	-	340.5	9.97
-	-	-	342.5	6.97

Tabla. 34. Niveles plasmáticos de gentamicina, tiempos de administración y de recogida de muestra, dosis y aclaramiento de creatinina correspondientes al conejo número 36.

t (días) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
1	0.68	0.95	0.87	0.78	0.89	1.12
2	0.74	0.87	0.73	0.84	0.99	1.47
3	-	1.09	3.22	11.55	-	-
4	0.83	0.70	0.93	1.40	2.79	5.60
5	0.96	0.98	1.10	4.75	-	-
6	0.96	0.96	0.98	1.08	0.84	0.89
7	0.85	1.42	1.43	-	-	-
8	0.90	1.23	1.10	1.05	-	-
9	0.90	1.00	0.96	0.94	-	-
10	0.83	1.34	1.00	1.08	-	-
11	0.86	0.78	1.10	4.68	10.56	-

Tabla. 35. Valores de creatinina sérica correspondientes a los conejos tratados con gentamicina.

ANEXO II

t (dias) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
1	14.1	13.7	11.6	7.48	12.0	12.00
2	13.9	15.4	9.73	10.6	12.0	10.1
3	-	13.3	13.2	-	-	-
4	14.6	12.3	12.2	11.4	12.0	8.60
5	-	10.9	7.10	7.35	-	-
6	10.20	11.28	14.89	15.04	13.75	14.40
7	-	11.45	9.53	8.21	-	-
8	12.47	8.54	9.30	10.3	-	-
9	9.60	9.70	10.1	10.4	-	-
10	-	6.28	10.10	9.42	-	-
11	14.6	11.8	10.0	12.3	7.87	-

Tabla. 36. Valores de calcio sérico correspondientes a los conejos tratados con gentamicina.

t (días) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
13	0.86	0.64	0.75	0.69	0.7	0.66
14	1.03	0.90	0.96	1.90	2.24	1.29
15	0.94	0.77	0.68	1.16	3.90	-
16	1.14	0.97	0.79	1.98	1.33	6.52
17	1.02	0.92	0.70	1.10	0.79	1.21
18	0.93	0.91	1.10	0.99	0.98	0.96
19	1.13	1.36	1.00	-	-	-
20	1.19	1.54	-	-	-	-
21	0.84	0.76	1.13	-	-	-
22	0.48	0.65	1.20	-	-	-
23	0.83	0.92	1.43	-	-	-

Tabla. 37. Valores de creatinina sérica correspondientes a los conejos tratados con gentamicina y calcio.

ANEXO II

t (días) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
13	14.8	13.9	13.2	14.8	14.6	11.7
14	14.1	14.3	11.5	12.8	-	11.3
15	15.1	18.4	14.3	12.4	14.0	-
16	13.2	14.5	13.1	14.0	14.0	11.9
17	13.3	16.4	13.5	10.3	12.6	11.1
18	15.4	18.4	14.2	14.4	16.7	9.7
19	10.47	14.67	12.43	13.26	11.5	-
20	11.02	13.25	12.85	12.15	-	-
21	13.05	14.62	15.40	15.16	-	-
22	11.53	11.75	14.04	11.51	-	-
23	13.39	12.90	14.13	13.83	-	-

Tabla. 38. Valores de calcio sérico correspondientes a los conejos tratados con gentamicina y calcio.

t (días) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
25	1.09	1.01	0.89	0.75	0.95	0.93
26	0.93	0.52	0.79	0.76	-	1.17
27	0.72	0.64	0.55	0.86	0.76	11.30
28	0.84	0.60	1.45	0.91	2.12	2.85
29	0.76	0.82	0.53	0.70	0.76	0.94
30	0.78	0.66	0.82	1.70	-	4.95
31	1.19	0.52	0.58	0.67	0.79	1.13
32	0.78	0.69	0.68	1.00	0.93	0.99
33	0.70	0.82	1.16	0.96	1.31	1.30
34	0.73	0.89	0.52	7.40	-	-
35	0.56	0.51	1.12	1.80	1.17	1.38
36	0.94	0.68	0.71	1.00	0.88	1.98

Tabla. 39. Valores de creatinina sérica correspondientes a los conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil.

ANEXO II

t (días) Nº	basal	2º	4º	7º	10º	15º
25	10.7	11.0	12.7	12.4	11.7	13.2
26	15.0	11.2	13.8	11.8	-	13.4
27	12.5	11.5	14.6	11.8	12.1	11.30
28	12.0	13.0	15.5	12.0	10.5	12.2
29	13.0	11.7	13.7	12.0	12.3	16.0
30	11.4	13.4	13.8	13.8	-	10.1
31	13.7	12.0	13.5	12.0	13.3	12.8
32	12.1	13.2	12.0	-	11.5	13.8
33	10.9	10.5	10.0	11.9	11.0	13.8
34	15.3	12.8	14.0	-	-	-
35	17.0	10.8	11.6	18.2	13.8	14.6
36	12.0	10.6	12.0	12.3	10.7	13.2

Tabla. 40. Valores de calcio sérico correspondientes a los conejos tratados con gentamicina, calcio y varapamil.

t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
-	-
7.41	1.02 ± 0.40
-	-
23.66	1.40 ± 0.40
31.66	1.67 ± 0.66
-	-
47.91	2.23 ± 1.20
55.91	2.68 ± 1.16
-	-
72.41	3.33 ± 1.31
80.41	4.03 ± 1.32
-	-
96.41	4.53 ± 1.70
104.41	5.05 ± 1.70
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
168.41	5.71 ± 2.10
176.41	5.77 ± 2.00
-	-
192.41	5.78 ± 2.10
200.41	5.77 ± 2.00
-	-
216.41	5.78 ± 2.00
224.41	5.78 ± 2.01
-	-
240.41	5.79 ± 2.10
248.41	5.77 ± 2.03
-	-
264.41	5.78 ± 2.10
272.41	5.77 ± 2.10
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
338.5	19.73± 4.2
340.5	11.02± 3.7
342.5	7.67 ± 1.9

Tabla. 41. Valores medios de concentración plasmática pertenecientes al grupo de conejos que recibieron gentamicina. (GRUPO I).

ANEXO II

t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
-	-
7.41	0.71 ± 0.21
-	-
23.66	0.86 ± 0.33
31.66	1.07 ± 0.41
-	-
47.91	1.52 ± 0.39
55.91	1.76 ± 0.51
-	-
72.41	1.84 ± 0.47
80.41	2.08 ± 0.43
-	-
96.41	2.11 ± 0.45
104.41	2.15 ± 0.43
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
168.41	2.15 ± 0.43
176.41	2.16 ± 0.43
-	-
192.41	2.16 ± 0.42
200.41	2.18 ± 0.41
-	-
216.41	2.16 ± 0.41
224.41	2.18 ± 0.42
-	-
240.41	2.18 ± 0.41
248.41	2.16 ± 0.43
-	-
264.41	2.16 ± 0.43
272.41	2.15 ± 0.41
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
338.5	9.33 ± 2.3
340.5	5.22 ± 1.2
342.5	3.83 ± 0.9

Tabla. 42. Valores medios de concentración plasmática pertenecientes al grupo de conejos que recibieron gentamicina y calcio (GRUPO II).

t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml)
-	-
7.41	0.63 ± 0.25
-	-
23.66	0.84 ± 0.36
31.66	1.05 ± 0.57
-	-
47.91	1.45 ± 0.56
55.91	1.77 ± 0.61
-	-
72.41	2.05 ± 0.59
80.41	2.46 ± 0.59
-	-
96.41	2.79 ± 0.74
104.41	3.15 ± 1.03
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
168.41	3.39 ± 1.03
176.41	3.60 ± 1.10
-	-
192.41	3.65 ± 1.13
200.41	3.64 ± 1.11
-	-
216.41	3.64 ± 1.09
224.41	3.65 ± 1.12
-	-
240.41	3.64 ± 1.11
248.41	3.65 ± 1.12
-	-
264.41	3.64 ± 0.99
272.41	3.63 ± 1.01
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
-	-
338.5	11.71 ± 3.9
340.5	7.34 ± 1.7
342.5	5.43 ± 1.3

Tabla. 43. Valores medios de concentración plasmática pertenecientes al grupo de conejos que recibieron gentamicina, calcio y verapamil (GRUPO III).

ANEXO II

GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
Nº	t AUC ₀ (mg/l·h)	Nº	t AUC ₀ (mg/l·h)	Nº	t AUC ₀ (mg/l·h)
1	3054.02	13	635.37	25	1641.23
2	2862.62	14	739.64	26	1359.50
3	3021.00	15	521.33	27	1662.70
4	2509.30	16	980.57	28	2020.90
5	2870.00	17	1168.70	29	1313.80
6	1243.20	18	1043.45	30	1455.20
7	1849.90	19	835.56	31	1076.90
8	1271.00	20	962.53	32	1465.70
9	2198.00	21	1154.68	33	955.33
10	1894.10	22	830.53	34	1012.30
		23	986.33	35	807.40
				36	2005.31

Tabla. 44. Areas bajo la curva correspondientes a los conejos tratados con gentamicina (GRUPO I), gentamicina y calcio (GRUPO II) y gentamicina, calcio y verapamil (GRUPO III).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.5237 p = 2.365E-3

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	10	26.50
2	10	7.727
3	11	17.58

Test estadístico : 19.81

Nivel de Significación: 4.988E-5

Tabla. 45. Análisis estadístico para el parámetro AUC_0^t efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

ANEXO II

t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml) [I]	Concentracion (mcg/ml) [V]
-	-	-
7.41	0.85 ± 0.12	1.23 ± 0.52
-	-	-
23.66	1.37 ± 0.46	1.43 ± 0.67
31.66	1.74 ± 0.67	1.58 ± 0.72
-	-	-
47.91	3.04 ± 1.46	2.25 ± 1.71
55.91	3.83 ± 2.24	2.69 ± 1.65
-	-	-
72.41	4.32 ± 2.46	3.54 ± 1.88
80.41	5.26 ± 2.55	3.99 ± 1.92
-	-	-
96.41	5.68 ± 0.70	3.80 ± 1.40
104.41	6.38 ± 1.10	3.99 ± 1.32
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
168.41	7.61 ± 0.30	4.20 ± 1.60
176.41	7.74 ± 0.26	4.20 ± 1.35
-	-	-
192.41	7.74 ± 0.26	4.22 ± 1.36
200.41	7.64 ± 0.85	4.23 ± 1.60
-	-	-
216.41	7.30 ± 0.36	4.20 ± 1.56
224.41	7.42 ± 0.67	4.44 ± 1.77
-	-	-
240.41	7.54 ± 0.20	4.15 ± 1.38
248.41	7.58 ± 0.78	4.32 ± 1.54
-	-	-
264.41	7.42 ± 0.56	4.26 ± 1.56
272.41	7.69 ± 0.59	4.18 ± 1.35
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
338.5	19.81 ± 2.36	14.37 ± 2.33
340.5	13.7 ± 4.15	9.38 ± 2.77
342.5	9.33 ± 0.76	6.67 ± 1.80

Tabla. 46. Valores medios de concentración plasmática pertenecientes al grupo de conejos que recibieron gentamicina durante los meses de invierno (I) y verano (V) respectivamente.

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
t AUC 0	3.754	0.114

t de STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
t AUC 0	5.567	1.83	S

Tabla. 47. Análisis estadístico para el parámetro AUC_0^t efectuado en los grupos de animales tratados con gentamicina durante el invierno y durante el verano.

ANEXO II

t muestr. (h)	Concentracion (mcg/ml) [I]	Concentracion (mcg/ml) [V]
-	-	-
7.41	0.65 ± 0.01	0.78 ± 0.31
-	-	-
23.66	0.73 ± 0.03	0.99 ± 0.45
31.66	0.84 ± 0.16	1.36 ± 0.47
-	-	-
47.91	1.46 ± 0.33	1.59 ± 0.49
55.91	1.67 ± 0.36	1.90 ± 0.71
-	-	-
72.41	1.86 ± 0.39	1.82 ± 0.63
80.41	2.11 ± 0.50	2.03 ± 0.37
-	-	-
96.41	2.18 ± 0.52	2.02 ± 0.38
104.41	2.23 ± 0.55	2.05 ± 0.33
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
168.41	2.25 ± 0.52	1.99 ± 0.26
176.41	2.22 ± 0.53	2.05 ± 0.26
-	-	-
192.41	2.23 ± 0.52	2.09 ± 0.30
200.41	2.25 ± 0.52	2.13 ± 0.24
-	-	-
216.41	2.32 ± 0.50	2.06 ± 0.27
224.41	2.32 ± 0.51	2.16 ± 0.18
-	-	-
240.41	2.30 ± 0.52	2.03 ± 0.31
248.41	2.35 ± 0.55	2.13 ± 0.34
-	-	-
264.41	2.33 ± 0.49	2.10 ± 0.32
272.41	2.35 ± 0.50	2.06 ± 0.36
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
-	-	-
338.5	8.34 ± 2.40	10.3 ± 1.97
340.5	4.35 ± 1.06	6.10 ± 0.53
342.5	3.17 ± 0.89	4.49 ± 0.56

Tabla. 48. Valores medios de concentración plasmática pertenecientes al grupo de conejos que recibieron gentamicina y calcio durante los meses de invierno (I) y verano (V) respectivamente.

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
t AUC 0	3.648	0.117

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
t AUC 0	0.8358	1.81	N.S

Tabla. 49. Análisis estadístico para el parámetro AUC_0^t efectuado en los grupos de animales tratados con gentamicina y calcio durante el invierno y durante el verano.

ANEXO II

SITUACION A)

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
t AUC 0	1.381	0.388

t de STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
t AUC 0	13.99	1.83	S

SITUACION B)

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
t AUC 0	9.913	0.024

t de STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
t AUC 0	3.754	1.83	S

Tabla. 50. Análisis estadístico para el parámetro AUC_0^t correspondiente al GRUPO I invierno y GRUPO II (situación A) y GRUPO I verano y GRUPO II verano (situación B)

CONEJO N°	K_{12}^{-1} (h ⁻¹)	K_{21}^{-1} (h ⁻¹)	K_i^{-1} (h ⁻¹)	K_s^{-1} (h ⁻¹)	V_1 (l)
1	0.21	0.012	0.37	0.00	0.68
2	0.29	0.029	0.53	0.00	0.52
3	0.49	0.010	0.52	0.032	0.22
4	0.34	0.03	0.58	0.032	0.63
5	-	-	-	-	-
6	0.14	0.019	0.38	0.00	1.2
7	0.18	0.047	0.43	0.075	0.52
8	0.16	0.016	0.48	0.14	0.43
9	0.24	0.041	0.77	0.032	0.26
10	0.15	0.028	0.59	0.098	0.33
11	0.30	0.013	0.56	0.021	0.35
X	0.24	0.025	0.516	0.043	0.532
S	0.108	0.012	0.123	0.046	0.295
C.V%	45.0	48.0	23.8	109.2	55.4

Tabla. 51. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a los conejos tratados con gentamicina. (GRUPO I).

ANEXO II

CONEJO N°	$K_{12} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$K_{21} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$K_i \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$K_s \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$V_1 \text{ (l)}$
13	0.19	0.045	0.52	0.15	1.38
14	0.20	0.044	0.45	0.03	1.90
15	0.60	0.061	1.50	0.08	0.12
16	0.22	0.038	0.55	0.052	0.87
17	0.22	0.038	0.56	0.65	0.74
18	0.26	0.042	0.50	0.25	1.32
19	0.11	0.087	0.39	0.34	1.10
20	-	-	-	-	-
21	0.16	0.040	0.57	0.66	0.55
22	0.07	0.052	0.35	0.21	1.13
23	0.07	0.020	0.30	0.25	1.4
X	0.21	0.046	0.569	0.314	1.051
S	0.153	0.017	0.340	0.204	0.503
C.V%	71.4	36.9	59.7	71.75	47.8

Tabla. 52. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a los conejos tratados con gentamicina y calcio. (GRUPO II).

CONEJO N°	K_{12}^{-1} (h ⁻¹)	K_{21}^{-1} (h ⁻¹)	K_i^{-1} (h ⁻¹)	K_s^{-1} (h ⁻¹)	V_1 (l)
25	0.16	0.018	0.31	0.40	1.15
26	0.21	0.022	0.40	0.333	1.10
27	0.26	0.058	0.40	0.0538	1.12
28	0.24	0.015	0.55	0.045	0.47
29	0.19	0.014	0.41	0.10	1.10
30	0.19	0.036	0.40	0.27	1.10
31	0.24	0.013	0.47	0.00	1.70
32	0.17	0.015	0.37	0.10	1.17
33	0.14	0.025	0.28	0.0	1.65
34	-	-	-	-	-
35	0.15	0.038	0.27	0.033	2.5
36	0.23	0.015	0.51	0.13	0.54
X	0.198	0.024	0.397	0.1328	1.236
S	0.040	0.014	0.089	0.138	0.560
C.V%	20.24	58.30	22.4	103.9	45.3

Tabla. 53. Parámetros farmacocinéticos correspondientes a los conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil. (GRUPO III).

ANEXO II

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Cochran :	0.449	p = 0.5241
Test de Bartlett :	1.031	p = 0.6628

ANALISIS DE LA VARIANZA

<u>VARIACION</u>	<u>G.L</u>	<u>CUADRADO MEDIO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
Entre tratamientos	2	0.0015395	6.234	0.0058
Dentro tratamientos	28	0.0002469		
Total	30			

COMPARACION MULTIPLE

<u>GRUPO</u>	<u>MEDIA</u>	<u>N</u>	<u>HOMOG. GRUPOS</u>
1	0.025	10	*
3	0.026	11	*
2	0.047	10	*

Tabla. 54. Análisis estadístico para el parámetro K_{21} efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Cochran :	0.527	p = 0.20116
Test de Bartlett :	1.179	p = 0.10993

ANALISIS DE LA VARIANZA

<u>VARIACION</u>	<u>G.L</u>	<u>CUADRADO MEDIO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
Entre tratamientos	2	0.0365394	4.583	0.0190
Dentro tratamientos	28	0.0079725		
Total	30			

COMPARACION MULTIPLE

<u>GRUPO</u>	<u>MEDIA</u>	<u>N</u>	<u>HOMOG. GRUPOS</u>
1	0.111	10	*
2	0.175	10	**
3	0.229	11	*

Tabla. 55. Análisis estadístico para el parámetro $K_{12} \cdot V_1$ efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.6238 p = 1.537E-3

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	10	18.65
2	10	14.05
3	11	15.36

Test estadístico : 1.368

Nivel de Significación: 0.504

Tabla. 56. Análisis estadístico para el parámetro K_{12} efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.9760 p = 1.115E-4

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	10	20.05
2	10	17.75
3	11	10.72

Test estadístico : 6.061

Nivel de Significación: 0.0482

Tabla. 57. Análisis estadístico para el parámetro K_i efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.8257 p = 3.211E-4

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	10	9.20
2	10	22.90
3	11	15.91

Test estadístico : 11.413

Nivel de Significación: 3.323E-3

Tabla. 58. Análisis estadístico para el parámetro K_s efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.5843 p = 2.135E-3

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	10	7.30
2	10	19.25
3	11	20.95

Test estadístico : 13.73

Nivel de Significación: 1.043E-3

Tabla. 59. Análisis estadístico para el parámetro V_1 efectuado en los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

ANEXO II

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
K ₁₂	6.731	0.046
K ₂₁	1.424	0.371
K · V _{12 1}	4.750	0.082
K _s	14.21	0.012
V ₁	3.597	0.121
K _i	3.570	0.123

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
K ₁₂	3.07	1.86	S
K ₂₁	1.80	1.86	N.S
K · V _{12 1}	0.13	1.86	N.S
K _s	1.99	1.86	S
V ₁	0.86	1.86	N.S
K _i	0.25	1.86	N.S

Tabla. 60. Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos correspondientes al grupo de animales que recibió gentamicina durante el verano y el invierno.

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
K ₁₂	2.318	0.218
K ₂₁	1.562	0.315
K · V _{12 1}	6.250	0.050
K _s	242.8	<0.001
V ₁	9.970	0.022
K _i	23.79	0.004

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>t_{exp}</u>	<u>t_{tab}</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
K ₁₂	0.540	1.86	N.S
K ₂₁	4.800	1.86	S
K · V _{12 1}	1.630	1.86	N.S
K _s	2.561	1.86	S
V ₁	2.15	1.86	S
K _j	1.00	1.86	N.S

Tabla. 61. Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos correspondientes al grupo de animales que recibió durante el invierno gentamicina y gentamicina y calcio (situación A).

ANEXO II

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
K ₁₂	1.159	0.428
K ₂₁	9.467	3.360
K · V _{12 1}	16.00	0.023
K _s	13.85	0.014
V ₁	9.617	0.025
K _i	1.755	0.336

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
K ₁₂	2.662	1.86	S
K ₂₁	3.360	1.86	S
K · V _{12 1}	0.538	1.86	N.S
K _s	2.82	1.86	S
V ₁	4.59	1.86	S
K _i	1.38	1.86	N.S

Tabla. 62. Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos correspondientes al grupo de animales que recibió durante el verano gentamicina y gentamicina y calcio (situación B).

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
t AUC 0	3.646	0.025

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
t AUC 0	3.88	1.72	S

Tabla. 63. Análisis estadístico para el parámetro farmacocinético AUC_0^t correspondiente al grupo de animales que recibió gentamicina y calcio (GRUPO II) y gentamicina, calcio y verapamil (GRUPO III).

ANEXO II

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB</u>
K ₁₂	14.06	0.001
K ₂₁	1.474	0.276
K · V _{12 1}	1.482	0.274
K _s	2.665	0.071
V ₁	1.239	0.379
K _i	14.59	0.001

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
K ₁₂	0.245	1.72	N.S
K ₂₁	3.249	1.72	S
K · V _{12 1}	1.234	1.72	N.S
K _s	2.246	1.72	S
V ₁	0.793	1.72	N.S
K _i	1.552	1.72	N.S

Tabla. 64. Análisis estadístico para los parámetros farmacocinéticos correspondientes al grupo de animales que recibió gentamicina y calcio (GRUPO II) y gentamicina, calcio y verapamil (GRUPO III).

GRUPO I			GRUPO II			GRUPO III		
Nº	Concent. (mcg/g)		Nº	Concent. (mcg/g)		Nº	Concent. (mcg/g)	
1	I	194.62	13	I	202.35	25	199.95	
2	I	281.21	14	I	146.19	26	199.95	
3	I	320.80	15	I	136.80	27	199.95	
4	I	281.21	16	I	146.27	28	199.95	
5	I	224.49	17	I	168.72	29	199.95	
6	V	173.50	18	I	146.27	30	245.83	
7	V	196.32	19	V	146.45	31	174.22	
8	V	215.76	20	V	159.24	32	199.95	
9	V	196.32	21	V	159.24	33	214.20	
10	V	173.50	22	V	152.71	34	-	
11	I	258.95	23	V	162.61	35	198.07	
						36	198.07	

I:invierno ; V:verano.

Tabla. 65. Concentraciones de gentamicina en tejido renal correspondientes a los grupos I (conejes tratados con gentamicina), II (conejes tratados con gentamicina y calcio), III (conejes tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD DE LAS VARIANZAS

Test de Bartlett : 1.6804 p = 5.78E-4
--

ANALISIS DE KRUSKAL-WALLIS

NIVEL	TAMAÑO DE LA MUESTRA	RANGO MEDIO
1	11	22.63
2	11	7.27
3	11	21.09

Test estadístico : 16.954

Nivel de Significación: 2.08E-4

Tabla. 66. Análisis estadístico efectuado para la comparación de los niveles de gentamicina en corteza renal correspondientes a los grupos I (conejos tratados con gentamicina), II (conejos tratados con gentamicina y calcio), III (conejos tratados con gentamicina, calcio y verapamil).

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
Concetracion (mcg/g)	6.339	0.034

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
Concetracion (mcg/g)	3.224	1.83	S

Tabla. 67. Análisis estadístico para la concentración de gentamicina en tejido renal correspondiente al grupo de conejos tratados con gentamicina durante el invierno y con gentamicina en el verano.

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
Concetracion (mcg/g)	3.155	0.146

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
Concetracion (mcg/g)	4.401	1.83	S

Tabla. 68. Análisis estadístico para la concentración de gentamicina en tejido renal correspondiente al grupo de conejos tratados durante el invierno con gentamicina y gentamicina y calcio (situación A).

HOMOGENEIDAD VARIANZAS

<u>PARAMETRO</u>	<u>F</u>	<u>PROB.</u>
Concetracion (mcg/g)	7.685	0.022

t DE STUDENT

<u>PARAMETRO</u>	<u>texp</u>	<u>t.tab</u>	<u>SIGNIFICACION</u>
Concetracion (mcg/g)	4.510	1.83	S

Tabla. 69. Análisis estadístico para la concentración de gentamicina en tejido renal correspondiente al grupo de conejos tratados durante el verano con gentamicina y gentamicina y calcio (situación B).

ANEXO II

Alteración Conejo Nº	GLOMERULO	TUBULO	VASOS	INTERSTICIO	OTROS
1	N	+	N	N	Calc.+
2	N	+++	N	N	Calc.+
3	N	+	N	N	Calc.
4	N	+ +	N	N	-
5	N	+	N	N	Calc.
6	N	+	N	N	-
7	N	N	N	N	-
8	N	+ +	N	N	-
9	N	+	N	N	Calc.
10	N	+ +	N	N	-

Tabla. 70. Resultados del informe histopatológico correspondiente al grupo I.

Alteracion Conejo Nº	GLOMERULO	TUBULO	VASOS	INTERSTICIO	OTROS
13	N	N	N	N	-
14	N	+	N	N	-
15	N	N	N	N	Calc.+
16	N	N	N	N	-
17	N	+	N	N	-
18	N	+	N	N	-
19	-	-	-	-	-
20	N	N	N	N	-
21	N	N	N	N	-
22	N	N	N	N	-
23	N	N	N	N	-

Tabla. 71. Resultados del informe histopatológico correspondiente al grupo II.

ANEXO II

Alteracion Conejo N°	GLOMERULO	TUBULO	VASOS	INTERSTICIO	OTROS
25	N	+ +	N	N	-
26	N	+	N	N	-
27	N	+	N	N	Calc.+
28	N	+	N	N	-
29	N	+ +	N	N	-
30	N	N	N	N	-
31	N	N	N	N	-
32	N	+ +	N	N	-
33	N	+ +	N	N	-
34	N	+	N	N	Calc.+
35	N	+	N	N	-
36	N	+	N	N	-

Tabla. 72. Resultados del informe histopatológico correspondiente al grupo III.

A N E X O I I a

CONEJO N° 2 ; GRUPO I.
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT

IC(1) n, 0. 0
IC(2) n,

ENTER MAXIMUM NUMBER OF ITERATIONS: 300

DO YOU WANT ITERATIONS PRINTED? n

-----RESULTS-----

---A. ITERATIONS---

ITERATION	0
NUMBER OF FUNCTION CALLS=	1
FITTED PARAMETERS	
K12	= 0.29000
K21	= 0.29000E-01
K1	= 0.54000
K5	= 0.10000E-03
V1	= 0.25000
SUM OF SQUARES=	1705.994
K21	= 0.29000E-01
K1	= 0.54000
K5	= 0.10000E-03
V1	= 0.25000
SUM OF SQUARES=	1705.994

---B. ITERATION SUMMARY---

CONVERGENCE HAS BEEN ACHIEVED

NUMBER OF ITERATIONS= 40
NUMBER OF FUNCTION CALLS= 218

FITTED PARAMETERS

K12	= 0.29506
K21	= 0.29826E-01
K1	= 0.54454
K5	= 0.49589E-04
V1	= 0.52644

SUM OF SQUARES OF DEVIATIONS= 1.49907E

ANEXO IIa

---C. DATA SUMMARY ---

DO YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

2	23.66	2.150	1.691	-0.4588	1.000
3	31.66	2.690	2.569	-0.1211	1.000
4	47.91	3.150	3.447	0.2971	1.000
5	55.91	3.350	4.148	0.7981	1.000
6	72.41	3.690	4.575	0.8851	1.000
7	80.41	4.500	5.260	0.7596	1.000
8	96.41	5.610	5.556	-0.5441E-01	1.000
9	104.4	7.870	6.110	-1.760	1.000
10	168.4	7.870	7.104	-0.7664	1.000
11	176.4	7.870	7.502	-0.3682	1.000
12	192.4	7.870	7.369	-0.5013	1.000
13	200.4	7.600	7.740	0.1402	1.000
14	216.4	7.200	7.562	0.3616	1.000
15	224.4	7.600	7.914	0.3136	1.000
16	240.4	7.600	7.702	0.1019	1.000
17	248.4	8.100	8.040	-0.6018E-01	1.000
18	264.4	7.470	7.804	0.3339	1.000
19	272.4	7.970	8.132	0.1616	1.000
20	338.5	20.84	20.71	-0.1322	1.000
21	340.5	11.75	12.30	0.5520	1.000
22	342.5	9.650	9.380	-0.2697	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

18	264.4	7.470	7.804	0.3339	1.000
19	272.4	7.970	8.132	0.1616	1.000
20	338.5	20.84	20.71	-0.1322	1.000
21	340.5	11.75	12.30	0.5520	1.000
22	342.5	9.650	9.380	-0.2697	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES 1

OUTPUT Y(1)	DEGREES OF FREEDOM 17	ERROR VARIANCE 0.4409	COEFF. OF DETERMINATION 0.979
PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL (95%)
R12	0.2951	23.11	[0.1512 , 0.4389]
R21	0.2900E-01	22.90	[0.1541E-01, 0.4424E-01]
R1	0.5448	13.44	[0.3901 , 0.6989]
R8	0.4950E-04	0.7478	[-0.7819 , 0.7820]
V1	0.5264	15.41	[0.3553 , 0.6976]

---E. MODEL PREDICTIONS---

DO YOU WANT A MODEL PREDICTIONS? 1 = YES

CONEJO N° 22 ; GRUPO II
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT

-----RESULTS-----

---A. ITERATIONS---

ITERATION	0
NUMBER OF FUNCTION CALLS=	1
FITTED PARAMETERS	
K12	= 0.26000
K21	= 0.40000E-01
K1	= 0.50000
Ks	= 0.25000
V1	= 1.1000
SUM OF SQUARES=	27.28385
K21	= 0.40000E-01
K1	= 0.50000
Ks	= 0.25000
V1	= 1.1000
SUM OF SQUARES=	27.28385

---B. ITERATION SUMMARY---

CONVERGENCE HAS BEEN ACHIEVED

NUMBER OF ITERATIONS= 63
NUMBER OF FUNCTION CALLS= 334

FITTED PARAMETERS

K12	= 0.70447E-01
K21	= 0.52810E-01
K1	= 0.35036
Ks	= 0.21235
V1	= 1.1345

FINAL SUM OF SQUARES= 1.636924

ANEXO Iia

DO YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

1	7.410	0.6800	1.022	0.3415	1.000
2	23.66	0.8900	1.011	0.1211	1.000
3	31.66	1.340	1.398	0.5785E-01	1.000
4	47.91	1.340	1.366	0.2562E-01	1.000
5	55.91	1.780	1.712	-0.6785E-01	1.000
6	72.41	1.780	1.206	-0.4943	1.000
7	80.41	1.860	1.771	-0.8862E-01	1.000
8	96.41	1.780	1.548	-0.2324	1.000
9	104.4	1.780	2.015	0.2350	1.000
10	168.4	1.670	1.642	-0.2758E-01	1.000
11	176.4	1.780	2.079	0.2994	1.000
12	192.4	1.670	1.645	-0.2459E-01	1.000
13	200.4	1.780	2.082	0.3016	1.000
14	216.4	1.670	1.647	-0.2349E-01	1.000
15	240.4	1.670	1.647	-0.2308E-01	1.000
16	248.4	1.670	2.083	0.4127	1.000
17	264.4	1.670	1.647	-0.2293E-01	1.000
18	272.4	1.670	2.083	0.4128	1.000
19	338.5	9.600	9.757	0.1569	1.000
20	340.5	5.660	5.267	-0.3929	1.000
21	342.5	3.770	3.112	-0.6576	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

17	264.4	1.670	1.647	-0.2293E-01	1.000
18	272.4	1.670	2.083	0.4128	1.000
19	338.5	9.600	9.757	0.1569	1.000
20	340.5	5.660	5.267	-0.3929	1.000
21	342.5	3.770	3.112	-0.6576	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES 1

OUTPUT Y(1)	DEGREES OF FREEDOM 16	ERROR VARIANCE 0.1023	COEFF. OF DETERMINATION 0.979
PARAMETER	MEAN	CV (%)	CONFIDENCE INTERVAL (95%)
K12	0.7045E-01	34.50	[0.1892E-01, 0.1220]
K21	0.5281E-01	145.9	[0.1105, 0.2161]
K1	0.3504	16.92	[0.2247, 0.4760]
Ks	0.2123	179.2	[0.5901, 1.015]
V1	1.135	9.478	[0.9066, 1.363]

---E. MODEL PREDICTIONS---

DO YOU WANT A MODEL PREDICTION? 1 = YES

CONEJO N° 27 ; GRUPO III
AJUSTE MEDIANTE EL PROGRAMA ADAPT

-----RESULTS-----

---A. ITERATIONS---

ITERATION	0
NUMBER OF FUNCTION CALLS=	1
FITTED PARAMETERS	
K12	= 0.16000
K21	= 0.18000E-01
K1	= 0.31000
Ks	= 0.40000
V1	= 1.0000
SUM OF SQUARES=	29.31131
K21	= 0.18000E-01
K1	= 0.31000
Ks	= 0.40000
V1	= 1.0000
SUM OF SQUARES=	29.31131

---B. ITERATION SUMMARY---

CONVERGENCE HAS BEEN ACHIEVED

NUMBER OF ITERATIONS= 66
NUMBER OF FUNCTION CALLS= 333

FITTED PARAMETERS

K12	= 0.26370
K21	= 0.58493E-01
K1	= 0.41848
Ks	= 0.55972E-01
V1	= 1.1273

CORRECTED SUM OF SQUARES= 0.9624479

ANEXO IIa

---C. DATA SUMMARY ---

DO YOU WANT A DATA SUMMARY TABLE? 1 = YES

2	23.66	1.450	1.677	0.2270	1.000
3	31.66	2.150	2.227	0.7704E-01	1.000
4	47.91	2.550	2.608	0.5808E-01	1.000
5	55.91	2.850	2.926	0.7558E-01	1.000
6	72.41	3.020	2.970	-0.5039E-01	1.000
7	80.41	3.090	3.261	0.1715	1.000
8	96.41	3.650	3.103	-0.5469	1.000
9	104.4	3.730	3.270	-0.4602	1.000
10	168.4	3.730	3.573	-0.1570	1.000
11	176.4	3.700	3.864	0.1638	1.000
12	192.4	3.920	3.834	-0.8610E-01	1.000
13	200.4	3.920	4.075	0.1549	1.000
14	216.4	3.920	3.974	0.5415E-01	1.000
15	224.4	3.920	4.189	0.2692	1.000
16	240.4	3.850	3.983	0.1326	1.000
17	248.4	4.020	4.161	0.1413	1.000
18	264.4	4.020	3.982	-0.3766E-01	1.000
19	272.4	4.020	4.161	0.1413	1.000
20	338.5	12.70	12.70	-0.3688E-02	1.000
21	340.5	8.370	8.462	0.9230E-01	1.000
22	342.5	6.910	6.611	-0.2989	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

19	264.4	4.020	3.982	-0.3766E-01	1.000
19	272.4	4.020	4.161	0.1413	1.000
20	338.5	12.70	12.70	-0.3688E-02	1.000
21	340.5	8.370	8.462	0.9230E-01	1.000
22	342.5	6.910	6.611	-0.2989	1.000

---D. STATISTICAL SUMMARY---

DO YOU WANT A STATISTICAL SUMMARY? 1 = YES

OUTPUT Y(I)	DEGREES OF FREEDOM 17	ERROR VARIANCE 0.5661E-01	COEFF. OF DETERMINATION 0.992
PARAMETER	MEAN	CV(%)	CONFIDENCE INTERVAL (95%)
K12	0.2609	21.67	(0.1434 , 0.3844)
K21	0.5849E-01	17.67	(0.3666E-01 , 0.8033E-01)
K1	0.4185	13.80	(0.2979 , 0.5391)
K2	0.5297E-01	21.07	(0.2909 , 0.7865)
V1	1.123	9.75	(0.8914 , 1.356)

---E. MODEL PREDICTIONS---

DO YOU WANT A MODEL PREDICTIONS? 1 = YES

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

1.- Al realizar el estudio farmacocinético de gentamicina en pacientes insuficientes renales, diabéticos y no diabéticos, sometidos a hemodiálisis se observa que, tras el ajuste de niveles plasmáticos a un modelo de tres compartimentos, los parámetros estimados son similares en los dos grupos estudiados. No obstante se obtienen valores dispares de K_{10} en ambos grupos de pacientes, valores que oscilan entre 0.00 h^{-1} y 0.50 h^{-1} para los pacientes no diabéticos y 0.00 h^{-1} y 0.52 h^{-1} para el grupo de pacientes diabéticos.

2.- Cuando se lleva a cabo el ajuste de niveles plasmáticos a un modelo de cuatro compartimentos, el tratamiento estadístico nos permite aceptar, en todos los casos, la hipótesis nula por lo que $K_{10} = 0$. En estas condiciones tanto al comparar los parámetros farmacocinéticos definitivos obtenidos como los valores de AUC_0^t correspondientes a los compartimentos 1, 2 y 4 (los dos primeros normalizados en función del peso del paciente), no encontramos diferencias significativas en cuanto al comportamiento farmacocinético de la gentamicina entre los dos grupos de pacientes insuficientes renales, diabéticos y no diabéticos, que participaron en el estudio.

3.- Al realizar el estudio farmacocinético de gentamicina en tres grupos de animales experimentación, se manifiesta una clara diferencia entre las concentraciones plasmáticas del

CONCLUSIONES

antibiótico, cuando este se administra solo, cuando se administra con calcio y cuando se administra con calcio y verapamil. Es posible que dichas diferencias se traduzcan en diferentes niveles de toxicidad.

4.- Desde el punto de vista farmacocinético se ha podido confirmar que las diferencias de niveles plasmáticos entre los tres grupos de animales de experimentación radica, fundamentalmente, en el parámetro que lleva implícito el componente renal de la eliminación (K_s), que adopta valores medios de 0.043 h^{-1} en el GRUPO I, 0.314 h^{-1} en el GRUPO II y 0.132 h^{-1} en el GRUPO III. Estas diferencias de valores son, posiblemente, consecuencia del grado de deterioro de la función renal ocasionado por la gentamicina, que es menos significativo cuando el tratamiento se realiza con calcio.

5.- Cuando se determina la gentamicina acumulada en el tejido renal, los valores medios obtenidos son:

228.6 mcg/g para el GRUPO I
156.9 mcg/g para el GRUPO II
202.7 mcg/g para el GRUPO III

una vez más las diferencias son significativas, lo que indicaría que, en presencia de calcio, el grado de acumulación del antibiótico, en tejido renal, es menor.

6.- El estudio histopatológico llevado a cabo en todos los animales, que intervinieron en el estudio, apoya los resultados obtenidos. No cabe duda que, en nuestra situación, la presencia de calcio reduce los niveles plasmáticos de gentamicina como consecuencia de un aumento en el proceso de excreción renal del antibiótico, o lo que es lo mismo, una disminución en el grado de insuficiencia renal provocada por la administración conjunta de calcio y gentamicina.

7.- El GRUPO III, costituido por animales tratados con gentamicina, calcio y verapamil, adopta en todos los casos una situación intermedia. En presencia de verapamil el efecto protector del calcio es menos significativo debido, posiblemente, a los cambios que este induce a nivel de membrana.

8.- La nefrotoxicidad inducida por gentamicina está sometida a variaciones circanuales y, a igualdad de dosis, los niveles más elevados de gentamicina corresponden a los tratamientos realizados en invierno. En este periodo estacional los valores de K_s son menores, como consecuencia de un incremento en el deterioro de la función renal, respecto a los datos obtenidos cuando el tratamiento se lleva a cabo en periodo estival.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- WAKSMAN. S.A.
Streptomycin nature and practical applications.
Williams and Wilkins Co. (1949).

- 2.- GOODMAN and GILMAN'S.
The Pharmacological Basis of Therapeutics.
Sixth edition. Mc Millan Publishing Co. 1980

- 3.- SCHENTAG. J.J.
Acumulation des Aminosides dans les tissues. Etude
comparative de la Gentamicine et Tobramycine chez des
malades aux reins sains.
Le Nouvelle Presse Medicale, 7, 3824-3829, (1978).

- 4.- FEDERSPIL. P.
L'ototoxicite de la Tobramycine et des autres
aminosides.
La Nouvelle Presse Medicale, 42, 3846-3848, (1978).

- 5.- SCHACHT. J.
Inhibition of Neomycin of polyphosphoinositides turnover
in subcellular fractions of guinea pig cerebral cortex
in vivo.
Neurochemistry, 27, 119, (1976).

BIBLIOGRAFIA

- 6.- WAGNER. J.A., OLIVER. B.M., SYNDER. S.M.
Aminoglycoside effects on voltage sensitive calcium channels and neurotoxicity.
New England J of Medicine, 317, 1669, (1987).

- 7.- NORRIS. CH.
Drugs affecting the inner ear. A review of their clinical efficacy, mechanism of action, toxicity and place in therapy.
Drugs, 36, 754-772, (1988).

- 8.- WERSALL. J.
Recent otological evaluation of aminoglycoside antibiotics.
Journal of Antim. Chemoth, Suppl A, 13, 31-36, (1984).

- 9.- KAMLMETER. G. and DAHLER. J.
Aminoglycoside toxicity, a review of clinical studies publish between 1975-1982.
Journal of Antim. Chemoth, Suppl A, 13, 9-22, (1984).

- 10.- KAMLMETER. G., HALLBERG. T. and KAMME.
Gentamicin and Tobramycin in patients with various infections, concentrations in serum and urinary excretion and nephrotoxicity.

Journal of Antim. Chemoth. Suppl A, 13, 30-37, (1984).

- 11.- RUDHART. M., BLANCHARD. P., FABRE. J.
Accumulation et persistance des aminosides dans le
parenchyme renal.
La Nouvelle Press Medicale, 3819, (1978).
- 12.- KNAUSS. T.H., WEINBERG. J.M., HUMES. D.
Subcellular distribution of alterations in renal cortex
acidic phospholipid, content induced by Gentamicin.
Kidney Int., 23, 205, (1983).
- 13.- SASTRASINH. M., WEINBERG. J.M., HUMES.D.
The degree of Gentamicin-induced acute renal failure in
various states of Na⁺ balance is due to structural
rather than functional renal abnormalities.
Kidney Int., 23, 207, (1983).
- 14.- KREGER. C., WEINBERG. J.M., HUMES. D.
Evidence that Gentamicin is not exclusively localized to
lysosomes.
Kidney Int., 23, 206, (1983).

BIBLIOGRAFIA

- 15.- PARADELIS. A.G., TRIANTAPHYDILLIS. C.
Neuromuscular blocking activity of aminoglycoside antibiotics.
Meth. and Find Exptl. Clin. Pharmacol., 2, (1), 45-51, (1980).
- 16.- ADAMS. H.R.
Neuromuscular blocking effects of aminoglycoside antibiotics on fast and slow contracting muscles of the cat.
Anesth. A., 55, 500-507. (1976).
- 17.- PARADELIS. A.G.
The neuromuscular blocking activity of aminodeoxykanamycin as compared with that of other aminoglycoside antibiotics.
Arzneim-forsch., 27, 141-143, (1977).
- 18.- GROWN. R.D.
Pharmacology of hearing and ototoxicity.
Annual Review Pharmacology and Toxicology., 18, 233, (1978).
- 19.- CHIU. P. J., BROWN. A., MILLER. G.
Renal excretion of Gentamicin in anesthetized dogs.

Antim. Agents. Chemoth., 10, 277-282, (1976).

20.- VAAMONDE. C.A.

Antibiotics-Induced Nephrotoxicity.

Proceedings of the IX International Congress of
Nephrology., 844-868, (1984). Los angeles.

21.- LUFT. F.C., KLEIT. S.A.

Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside
antibiotics in rats.

J. Infect. Dis., 130, 656-659, (1974).

22.- FABRE. J., RUDHART. M., BLANCHARD. P.

Persistence of Sisomicin and Gentamicin in renal cortex
and medulla compared with other organs and serum of
rats.

Kidney Int., 10, 444-449, (1976).

23.- EDWARDS.C.Q., SMITH. C.R., BAUGHMAN.K.L.

Concentrations of Gentamicin and Amikacin in human
kidneys.

Antim. Agents. Chemoth., 9, 925-927, (1976).

BIBLIOGRAFIA

- 24.- LUFT. F. C., YUM. M. N., WALKER. P. D.
Gentamicin gradient patterns and morphologic changes in human kidneys.
Nephron., 18, 167-174, (1977).
- 25.- JUST. M., ERDMANN. G., HABERMANN. E.
The renal handling of polybasic drugs. I, Gentamicin and aprotinin in intact animals.
Nannyu-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 300, 57-66, (1977).
- 26.- SILVERTBLAT. F. J., KUEHN.C.
Autoradiology of Gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell.
Kidney Int., 15, 335-345, (1979).
- 27.- FELDMAN. S., MENQ-YUN. M., KALOYANIDES. G.J.
Aminoglycosides induce a phospholipidosis in the renal cortex of the rat : an early manifestation of nephrotoxicity.
The Journal of pharmacol. and Exp. Therap., 220, 514-520, (1982).
- 28.- KOURNGUTH. M., KUNIN. C. M.
Distribution of gentamicin and Amikacin in rabbit

- tissues.
Antim. Agents. Chemoth., 11, 974-977, (1977).
- 29.- COLLIER. V. U., LIETMAN. P. S., MITCH. W. E.
Evidence for luminal uptake of gentamicin in the
perfused rat kidney.
J. Pharmacol. Therap., 210, 247-251, (1979).
- 30.- HUMES. H. D., WEINBERG. J. M., KNAUSS. T. C.
Clinical and Pathophysiological aspects of
aminoglycoside nephrotoxicity.
Am. J. Kidney. Dis., 2, 5-29, (1982).
- 31.- SASTRASINH. M., KNAUSS. T. C., WEINBERG. J. M., HUMES.
M. D.
Identification of the aminoglycoside binding sites in
the rat renal brush border membranes.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 222, 350-358, (1982).
- 32.- DE BROE. M .E., PAULUS. G. J., VERPOTEN. G. A.
Nephrotoxicity of gentamicin in humans.
Nephrotoxicity, ototoxicity of drugs. Rouen. Ed.
Inserm., 147-165, (1982).

BIBLIOGRAFIA

- 33.- HOUGHTON. D.C., HARTNETT.M., CAMBELL-BOSWELL., BENNET. W.
A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats.
Am. J. Pathol. 82, 589-612, (1976).
- 34.- DE BROE. M.E., PAULUS. G.J., VERPOOTEN. G.R., ROELS. F.
Early effects of gentamicin, tobramycin and amikacin on the human kidney.
Kidney Int., 25, 643-652, (1984).
- 35.- GILBERT. D. N., HOUGHTON. D. C., BENNET. W. M.
Reversibility of gentamicin nephrotoxicity in rats: Recovery during continuous drug administration.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 160, 99-103, (1979).
- 36.- CRONIN. R. E., BULGER. R. E., SOUTHERN. P.
Natural history of aminoglycoside nephrotoxicity in the dog.
J. Lab. Clin. Med. 95, 463-474, (1980).
- 37.- SILVERBLATT. F.
Pathogenesis of nephrotoxicity of cephalosporins and aminoglycosides. A review of current concepts.
Reviews of Infect. Diseases. 4, suppl. 360-365, (1982).

- 38.- LEITMAN. P. S.
Aminoglycoside inhibition of a renal sodium-potassium ATPase : a possible mechanism for nephrotoxicity.
In Program and abstracts of the 18 th interscience conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology. Washington. (1978).
- 39.- LIPSKY. J. J., LIETAN. P. S.
Neomycin inhibition of adenosine triphosphatase. Evidence for a Neomycin-phospholipid interaction. Ant. Agents. Chemoth. 18, 532-535, (1980).
- 40.- CALDERSON P., FURNELLE. J., CRISTOPHE. J.
Phosphatidylinositol turnover and calcium movement in the rat pancreas.
Am. J. Physiol. 238, 6247-6254, (1980).
- 41.- SEGRE. V., SUTHERLAND. G. V.
Heterogeneity and metabolism of parathyroid hormone in endocrinology.
In L. Groot. 613-619, (1979).
- 42.- SALAS APARICIO. A.
Metabolismo del calcio : Regulacion de la calcemia por la PTH y calcitonina.

BIBLIOGRAFIA

J.A.N.O., 463, 73-82, (1982).

43.- GOLTZMAN. D.

Biochemical mode of action of parathyroid hormone in endocrinology.

In L. Groot. 631-634, (1979).

44.- HRUSKA. K. A., MOSKOWITZ. D., ESBRIT. P.

Stimulation of inositol trisphosphate and diacyl glycerol production in renal tubular cells by parathyroid hormone.

J. Clin. Invest., 79, 230-239, (1987).

45.- RAMSAMMY. L. S., JOSEPOVITZ. C., KALOYANIDES. G.J.

Gentamicin inhibits agonist stimulation of the phosphatidylinositol cascade in primary cultures of rabbit proximal tubular cells and in a rat renal cortex.

J. Pharmacol. Exp. Therap., 247, 989-996, (1988).

46.- BERRIDGE M. J.

Inositol trisphosphate and diacylglycerol, two interacting second messengers.

Annu. Rev. Biochem., 56, 159-193, (1987).

BIBLIOGRAFIA

- 47.- SENEKJIAN. H. O., KNIGHT. T. F., WEINMAN. E. J.
Micropuncture study of a renal handling of gentamicin
in the rat.
Kidney Int. 19, 416-423, (1981).
- 48.- FILLASTRE. J. P., KUHN. J. M., BENDIRDJIAN. J. P.,,
FOUCHER. B., LESEUR. J. P.
Prediction of antibiotic nephrotoxicity.
In advances in nephrology, 6, (1976).
- 49.- DAVIS. E. J., DAAVIS-VAN THIENSEN WIA.
Control of mitochondrial metabolism by the ATP/ADP
ratio.
Biochem. Biophys. Res. Commmun., 83, 1260, (1968).
- 50.- SIMMONS. C. F. Jr., BOGUSKY. R. T., HUMES. H. D.
Inhibition effects of gentamicin on renal mitochondrial
oxidative phosphorilation.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 214, 709-715, (1980).
- 51.- WEINBERGG. J. M., SIMMONS. C. F. Jr., HUMES. H. D.
Alterations of mitochondrial respiration induced by
aminoglycoside antibiotics.
Res. Commun. Chem. Path. Pharm., 27, 521-531, (1980).

BIBLIOGRAFIA

- 52.- SASTRASINH. M., WEINBERG. J. M., HUMES. H. D.
Effect of gentamicin on calcium uptake by renal
mitochondria.
Life. Sci., 26, 2309-2315, (1982).
- 53.- APPEL. G. B., NEU. H. C.
The nephrotoxicity of antimicrobial agents.
N. Engl. J. Med. 296, 663-670, (1982).
- 54.- SMITH. T. R., SMITH.. C. R.
Risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity.
In the Aminoglycosides Microbiology Clinical use and
Toxicology. Ed. NEU., 401-415, (1982). N.York.
- 55.- SMITH. T. R., MAXWELL. R. R., EDWARDS. G.G.
Nephrotoxicity induced by gentamicin and amikacinn.
Johns Hopkins Med. J., 142, 85-90, (1978).
- 56.- KLAHR. S., PURKERSON. M. L., HEIFETS. M.
Factors that may retard the progression of renal
disease.
Kidney Int., 32, Suppl. 22, 35-39, (1987).

- 57.- MOORE. R. D., SMITH. C. R., LIPSKY. J. J., MELLITS. E. D., LIETMAN. P. S.
Risk factors for nephrotoxicity in patients treated with aminoglycosides.
Annu. Intern. Med., 100, 352-357, (1984).
- 58.- SCENTANG. J. J., JUSKO. W. J.
Renal clearance and tissue accumulation of gentamicin.
Clin. Pharmacol. Therap., 22, 364-370, (1977).
- 59.- LUFT. F. C., RANKIN. L. I., SLOAN. R. S., FINEBERG. N.
Comparative low dose nephrotoxicity of dibekacin, gentamicin and tobramycin.
J. Antimicrob. Chemother., 9, 297-301, (1982).
- 60.- DALHGREN. J. C., ANDERSON. E. T., HEWITT. W. L.
Gentamicin blood levels : a guide to nephrotoxicity.
Antimicrob. Agents. Chemother., 8, 58-62, (1975).
- 61.- BENNET. W. M., PARKER. R. A., ELLIOT. W. L., GILBERT. D. N., HOUGHTON. D. C.
Sex-related differences in the susceptibility of rats to gentamicin nephrotoxicity.
J. Infect. Dis., 145, 370-373, (1982).

BIBLIOGRAFIA

- 62.- VAAMONDE. C. A., GOUVEA. W., OWENS. B., ALPERT. H.
Sex does not influence the protection against gentamicin nephrotoxicity in the diabetic rat. (Abstract).
Kidney Int., 25, 238, (1984).
- 63.- BECK. P. R., THOMSON. R. B., CHADHURI. A.K.R.
Aminoglycoside antibiotics and renal function : changes in urinary gamma-glutamyl transferasa excretion.
J. Clin. Pathol., 30, 432-437, (1977).
- 64.- MONDORF. A. W., HENDUS. J., BREIER. J., SCHERBERICH. J. G., MACKENRODT. G., SHAH. P. M.
Effect of aminoglycosides on proximal tubular membranes of the human kidney.
Europ. J. Clin. Pharmacol., 13, 133-142, (1978).
- 65.- LUFT. F.C., PATEL. V., YUM. M.N., PATEL. G., KLEIT.S.A.
Experimental aminoglycosides nephrotoxicity.
J. Lab. Clin. Med., 86, 213-220, (1975).
- 66.- SMITH. P., GUNTUPALLI. J., EBY. B.
Evidence that gentamicin produces tubular wastage of K⁺ and Mg²⁺ independent of reduced G.F.R. and aldosterone.
Clin. Res., 29, 475 A, (1981).

- 67.- TESCHAN.P.E.,LAWSON.N.L.,
Studies in accute renal failure. Prevention by osmotic diuresis, and observations on the effect of plasma and extracellular volume expansion.
Nephron., 4, 337-355, (1966).
- 68.- TEIXEIRA.R.B., KELLEY.J., ALPERT.H., PARDO.V., VAAMONDE.C.
Complete protection from gentamicin-induced acute renal failure in the diabetes mellitus rat.
Kidney Int., 21, 600-612, (1982).
- 69.- VAAMONDE.C.A., TEIXEIRA.R.B., MORALES.J., ROTH.,
KELLEY.J., ALPERT.H.,PARDO.V.
A new model for studying drug-induced acute renal failure: the rat with untreated diabetes mellitus.
In Acute renal failure: Eliahou.M.E., Libbey.J., London., 96-101, (1982).
- 70.- TEIXEIRA.R.B., MORALES.J., KELLEY.J., ALPERT.H., PARDO.V.,
VAAMONDE.C.A.
Mechanism of complete protection from gentamicin induced acute renal failure in the untreated streptozotocin diabetic rat.
Clin. Res., 28, 463 A, (1980).

BIBLIOGRAFIA

- 71.- VAAMONDE.C.A., TEIXEIRA.R.B., MORALES.J., KELLEY.J., ALPERT.H.

A decreased early renal cortical accumulation of gentamicin (G) is associated with protection against G-induced acute renal failure in the untreated rat with diabetes mellitus.

Clin. Res., 29, 479 A, (1981).

- 72.- ALPERT.H., VAAMONDE.C.

Disposition of gentamicin in the diabetic rat.

Kidney Int., 37, 475, (1990).

- 73.- VAAMONDE.C.A., BIER.R.T., ALPERT.H., KELLEY.J., PARDO.V.
Effect of duration of diabetes on the protection observed in the diabetic rat against gentamicin-induced acute renal failure.

Mineral Electrolyte Metab., 10, 209-216, (1984).

- 74.- GOUVEA.W., ALPERT.H., KELLEY.J., PARDO.V., VAAMONDE.C.A.
Phlorizin induced glycosuria does not prevent gentamicin nephrotoxicity in rats.

Kidney Int., 35, 1041-1048, (1989).

- 75.- VAAMONDE.C.A., ROTH.D., KELLEY.J., ALPERT.H.

Insulin reverses the protection afforded by diabetes

against gentamicin-induced acute renal failure.
Clin. Res., 30, 465 A, (1982).

- 76.- VAAMONDE.C.A., GOUVEA.W., OWENS.B., ALPERT.H.
Pharmacokinetics of gentamicin in diabetics rats.
In: Renal heterogeneity and target cell toxicity.,
Wiley.J., Chichester.,345-348, (1985).
- 77.- QUARUM. M., Mc. CARRON. D. A., HOUGHTON. D. C., GILBERT.
D.N., BENNET. W. M.
Modification of experimental gentamicin nephrotoxicity
by increased dietary calcium.
Kidney Int., 23, 207, (1983).
- 78.- BENNET. W., ELLIOT. C. W., HOUGHTON. D. C., GILBERT. D.
N., DEFEHR. J., Mc.CARRON. D. A.
Reduction of experimental gentamicin nephrotoxicity in
rats by dietary calcium loading.
Antim. Agents. Chemother. 22, 508-512, (1982).
- 79.- HUMES. H. D., SASTRASINH. M., WEINBERG. J. M.
Is calcium a competitive inhibitor of the gentamicin renal
membrane receptor interaction which ameliorates gentamicin
nephrotoxicity ?.
Kidney Int.,23, 204, (1983).

BIBLIOGRAFIA

- 80.- HUMES. H. D., SASTRASINH. M., WEINBERG. J. M.
Calcium is a competitive inhibitor of gentamicin renal membrane binding interactions and dietary calcium supplementation protects against gentamicin nephrotoxicity.
J. Clin. Invest., 73, 134-147, (1984).
- 81.- ELLIOT. W. C., JONES. D. B.
Effect of parathyroid hormone activity on gentamicin nephrotoxicity.
J. Lab. Clin. Med., 109, 48-54, (1987).
- 82.- ELLIOT. W. C., PATCHIN. D., JONES. D.
Effect of parathyroidectomy (PTX) on renal gentamicin accumulation nephrotoxicity and calciuria.
Kidney Int., 27, 230, (1985).
- 83.- GOLIGORSKY. M. S., CHAIMOVITZ. C., RAPOPORTZ. J.,
GOLDSTEIN. J., KOL. R.
Calcium metabolism in uremic nephrocalcinosis : preventive effect of verapamil.
Kidney Int., 27, 774-779, (1985).
- 84.- HARRIS. D. C. H., HAMMOND. W. S., BURKE. T. J., SCHRIER.
Verapamil protects against progression of experimental

- chronic renal failure.
Kidney Int., 31, 41-46, (1987).
- 85.- BURKE. T. J., ARNOLD. P. E., GORDON. J. A., BULGER. R. E., DOBYAN. D. C., SCHRIER. R. W.
Protective effect of intrarenal calcium membrane blockers before or after renal ischemia.
J. Clin. Invest., 74, 1830-1841, (1984).
- 86.- HAROLD. J. S., JONG. E. YIN.
Microbioassay of antimicrobial agents.
Appllied Microbiology., 19, 4, 573-579, (1970).
- 87.- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA.
Twenty second Edition., 1488-1493, (1990).
- 88.- DIESTANG. J., HAROL. F. N.
In vitro studies of Tobramycin and aminoglycoside antibiotic.
Antim. Agents. Chemoth., 1, 1, 41-45, (1972).
- 89.- ANHALT. P. J.
Antimicrobial assays. In laboratory procedures in clinical microbiology., 681-713, (1981).

BIBLIOGRAFIA

- 90.- SABATH. L. D., CASEY. J. I., RUCH. P. A., STUMPF. L.,
FINLAND. M.
Rapid microassay for circulating nephrotoxic antibiotics.
Antim. Agents. Chemother., 1, 1, 83-90, (11970).
- 91.- CHRISTENSEN. H. B.
Statistics step by step.
Ed. Trillas. Mejico. (1983).
- 92.- SHINABERGER. J. H.
Indications for dialysis.
In: Clinical aspects of uremia and dialysis.,
Sellers. A. L., ed. Springfield., (1976).
- 93.- MAN. N. K., JUNGERS. P.
Principes physico-chimiques de la dialyse.
In: Nephrologie., Hamburger. J., Crosnier. J.,
- 94.- WOLF. A. V., REMP. D. G., KILEY. J. E., CURRIE. G. D.
Artificial kidney function: kinetics of hemodialysis.
J. Clin. Invest., 30, 1062, (1951).
- 95.- MICHAELS. A. S.
Operating parameters and performance criteria for

hemodialyzers and other membrane separation devices.
Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs., 17, 81, (1971).

96.- HAMPERS.C.L., SCHUPAK.E., LOWRIE.E.G., LAZARUS.J.M.
Clinical engineering in hemodialysis.
In: Long term hemodialysis., Grune & Stratton ed., New
York, (1973).

97.- LEONARD.E.F., BLUEMLE.L.W. Jr.
Permeability concept as applied to dialysis.
Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs., 6, 33, (1960).

98.- GOICH.F.A.
Solute transport and ultra-filtration in hemodialysis.
In: Clinical aspects of uremia and dialysis.,

99.- KOLFF.W.J., WATSCHINGER.B.
Further development of a coil kidney. Disposable
artificial kidney.
J. Lab. Clin. Med., 47, 969, (1956).

100.- LOWRIE.E.G., HAMPERS.C.L., MERRIL.J.P.
Twin coil: performance and predictability.
Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs., 15, 60, (1969).

BIBLIOGRAFIA

- 101.- GOTCH.F., SARGENT.K.M., HOLMES.G., TEISINGER.C.
Development of long term clinical evaluation of a
thrombo-resistant hollow fiber kidney (HFK).
Trans. Am. Soc. Intern. Organs., 18, 135, (1972).
- 102.- BONAL.J., TEIXIDO.J.
Métodos de tratamiento substitutivo renal.
Medicine., 56, 2237-2245, (1990).
- 103.- LEVINE.M.
Care of renal patient.
Ed. Saunders. (1983).
- 104.- PONTICELLI.C.
La dialisi.
Scientifico Ed. (1985).
- 105.- FREIREICH. J. L.
Quantitative comparation of toxicity of anticancer agnts
in mouse, rat, dog, monkey and man.
Cancer Chemother.Rep., 50, 219-244, (1966).
- 106.- VAISSAIRE. J. P.
Le chien animal de laboratorie.

Ed. Vigot. (1972).

107.- INFORMACION DE MEDICAMENTOS.

Ministerio de Sanidad y Consumo. Tomo I. (1989).

108.- SARKAR. R.

Chaunen. Anal. Biochem., 20-55, (1967).

109.- BARTELS. H.

Clin. Chim. Acta., 32, 81, (1971).

110.- GUTMANN. I., BERGMEYER. H.

Methoden des enzymatischen analyse.

Verlag. Chemie. Weinheim. (1974).

111.- KORNGUTH. M. L., KUNIN. C. M.

Distribution of gentamicin and amikacin in rabbit tissues.

Antim. Agents. Chemother., 11, 6, 974-977, (1977).

112.- CHIU. P. J., BROWN. A., MILLER. G., LONG. J. F.

Renal extraction of gentamicin in anesthetized dogs.

Antim. Agents. Chemother., 10, 2, 277-282, (1976).

BIBLIOGRAFIA

- 113.- HAM. A.
Tratado de histologia. Ed. Iberoamericana. Septima edicion.
Mejico. (1981)
- 114.- LEESON. C. R., PAPARO. A. A.
Histologia. Ed. interamericana. Quinta edicion. Mejico. (1979).
- 115.- GONZALEZ-CRUSSI. F., WOLFSON. S. L.
Peripheral neuroectodermal tumors of the chest wall in childhood.
Cancer., 54, 11, 2519-2527, (1984).
- 116.- DABBS. D. J., GEISINGER. K. R., NORRIS. H. T.
Intermediate filaments in endometrial and endocervical carcinomas.
Am. J. Surgical. Pathology., 10, 8, 568-576, (1986).
- 117.- COLBURN. W., SHEN. D., GIBALDI. M.
Pharmacokinetic analysis of drug concentration data obtained during repetitive drug administration.
J. Pharm. Biopharm., 4, 469-486, (1976).

- 118.- FELDMAN. H.
A short parameter-fitting for compartment models.
Comput. Prog. Biomed., 7, 135-144, (1977).
- 119.- MARQUARDT. D.
Least squares estimation of nonlinear parameters.
IBM Share Library Prog. n° 309401. (1966).
- 120.- METZLER. C.
Nonlin a computer program for parameter estimation in
nonlinear situations.
Tech. Rep. 7292/69/92921005. The Upjohn Company. (1969)
- 121.- PEDERSEN. P., COMPT. A.
A time-sharing program for nonlinear regression analysis
of compartmental models of drugs distribution.
J. Pharm. Biopharm., 2, 137-163, (1973).
- 122.- PFEFFER. M.J.
J. Pharm. Biopharm., 5, 513-531. (1977).
- 123.- BUELL. J., KALABA. R., YAKUSK. A., RUSPINI. E.
A program for identification of linear systems.
Comput. Prog. Biomed., 2, 8-15, (1971).

BIBLIOGRAFIA

- 124.- HARTLEY. H.
The modified Gauss-Newton method for fitting of nonlinear regression function by least squares.
Technometrics., 3, 269-280, (1961).
- 125.- BROWN. K., DENNIS. J.
Derivate free analogues of the Levenderg-Marquardt and Gauss algorithms for nonlinear least squares approximations.
Num. Math., 18, 284-297, (1972).
- 126.- NELDER. J., MEAD. R.
A simplex method for function minimization.
Comput. J., 4, 308-313, (1965).
- 127.- OLSSON. D., NELSON. L.
The Nelder-Mead simplex procedure for function minimization.
Technometrics., 17, 45-51, (1975).
- 128.- ROSENBROCK. H., STORH. C.
Computational Techniques for chemical engineers.
Pergamon Press. Oxford. (1966).

- 129.- SANCHEZ. E., EVORA. C., TORRES, A., LLABRES. M.
A new approach to pharmacokinetic parameters :
estimation of Cefuroxime during haemodialysis.
Biophar. Drug. Disposition., 11, 107-120, (1990).
- 130.- LANDAW . G.M., DI STEFANO. J.J.
Multi-exponential, multicompartamental and non-
compartmental modelling. II. Data analysis and
statistical considerations.
Am. J. Physiol., 246, R663-677, (1984).
- 131.- MARIÑO. E.L., LASTRA. C.F., DOMINGUEZ-GIL. A.
Estimación paramétrica en sistemas : aplicación
en farmacocinética y monitorización de medicamentos
en la práctica clínica (I).
Pharmaklinic., 3, 83-89, (1987).
- 132.- MARIÑO. E.L, LASTRA. C.F., DOMINGUEZ-GIL. A.
Estimación paramétrica en sistemas : aplicación
en farmacocinética y monitorización de medicamentos
en la práctica clínica (II).
Pharmaklinic., 1, 74-80, (1988).
- 133.- SPIEGEL. M.R.
Estadística. McGraw-Hill Ed. (1991)

BIBLIOGRAFIA

- 134.- RIOS. S.
Métodos Estadísticos. Castillo Ed. (1977).
- 135.- GIBSON. T.P.
Influence of renal disease on pharmacokinetics.
Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic
Drug Monitoring.
Applied Therapeutics. Inc., San Francisco. (1981).
- 136.- BOROJERDI. M.
The comparability of pharmacokinetics of creatinine
in rabbit and man : A mathematical approach.
J. Theor. Biol., 95, 369-380, (1982).
- 137.- CAMBAR. J., DORIAN. C., CAL. J.Ch.
Chronobiologie et physiopathologie rénale.
Path. Biol., 35, 977-984, (1987).
- 138.- DORIAN. C., CATROUX. Ph., PARIAT. C., CAMBAR. J.
Mise en évidence des variations circadiennes et
circannuelles de la toxicité et de la nephrotoxicité
des antibiotiques aminoglycosidiques chez les rongeurs.
Actes du 112 Congrès National des Sociétés Savantes.
Sciences. Fasc. III. Lyon. (1987).

- 139.- JELLIFFE. R.W.
Scientific therapeutics: three relevant bedside approaches to patients which have resulted from computers and mathematical analysis. En Ducrot y cols. : Computer aid to drug therapy and drug monitoring. IFIP. North Holland Publishing Company. Amsterdam, 313-321, (1978).
- 140.- FORREST. A., GILMAN. T.M., RODMAN.J.H., JELLIFFE. R.W.
A timeshared computer program for adaptative control of aminoglycoside therapy.
Clin. Pharmacol. Ther., 27, 254, (1980)
- 141.- D'ARGENIO.Z., KHAKMAHD.H.
Pharmacometrics: adaptative control of theophylline therapy: importance of blood sampling times.
J. Pharmacok. Biopharm., 11, 547-559, (1983)
- 142.- JELLIFFE. R.W.
Estimation of creatinine clearance when urine cannot be collected.
Lancet., 1, 975-976, (1967).
- 143.- JELLIFFE.R.W., JELLIFFE.S.M.
A computer program for estimation of creatinine clearance for unstable serum creatinine levels, age, sex and

BIBLIOGRAFIA

weight.

Math. Biosci., 14, 17-24, (1972).

144.- SAWCHUK. J.R., ZASKE. D.E.

Pharmacokinetics of dosing regimens which utilize multiple intravenous infusions: gentamicin in burn patients.

J. Pharmacokin. Biopharm., 4, 183-195, (1976).