



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

**“Efecto del nivel y del tiempo de la  
lesión medular sobre la eliminación renal”**

T E S I S  
que presenta la  
M. en C. VIOLETA RODRÍGUEZ ROMERO

para obtener el grado de  
DOCTORA EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE  
FARMACOLOGÍA

Directores de la Tesis:  
Dr. Gilberto Castañeda Hernández  
Dra. Leticia Cruz Antonio

México, D.F.

Diciembre, 2015

**El presente trabajo de investigación se desarrolló bajo la dirección del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y la Dra. Leticia Cruz Antonio, en el Lab. 34 del Departamento de Farmacología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional y en el Laboratorio de Farmacocinética y Farmacodinamia del Centro de Investigación Proyecto CAMINA, A.C.**

*Al recuerdo de **Víctor Hugo Romero Fuentes**,  
quien se encargó de devolverme la confianza al dar mis  
primeros pasos y enseñarme que sin importar cuántas  
caídas tengamos, lo importante es levantarse. Gracias  
tío por motivarme en todo momento, sé que siempre  
tendré su dedo puesto en mi hombro para poder  
seguir... ¡firme y adelante!*

## **AGRADECIMIENTOS.**

El presente escrito representa la culminación de 4 años de trabajo, esfuerzo y dedicación continuos, pero no solamente mío, sino de todas las personas que han estado presentes a lo largo de esta etapa; sin cuya ayuda, participación y/o apoyo, no hubiera sido posible afrontar con éxito la elaboración de este proyecto.

En primer lugar, doy gracias a Dios por hacerse presente en cada instante de mi vida, por darme la capacidad de confiar en Él y por demostrarme que mi vida está en sus manos. Gracias Dios por haberme ayudado hasta aquí y por permitirme recorrer el camino que ya tenías trazado para mí.

De forma muy especial, quiero agradecer a mis directores de tesis, quienes son la piedra angular de mi formación como investigadora y por lo cual les estaré eternamente agradecida. Primeramente, al Dr. Gilberto Castañeda Hernández, quien desde el año 2010 me acogió como parte de su grupo de investigación, abriéndome las puertas no solo al desarrollo profesional, sino también personal. Gracias Dr. por su apoyo incondicional y por la confianza que puso en mí desde el principio. Asimismo, a la Dra. Leticia Cruz Antonio, no solamente por sus enseñanzas, sino por el apoyo y la motivación que siempre me brindó. Gracias también por la paciencia y por aquellas pláticas que me enseñaron que lo importante siempre se antepone a lo urgente. Dres., ha sido un privilegio contar con su dirección a lo largo de este trayecto, pero sobre todo con su invaluable amistad.

Extiendo este agradecimiento a los miembros de mi Comité Tutorial: Dra. Claudia Pérez, Dra. Liliana Favari, Dr. José Luis Reyes y Dr. Olivier C. Barbier. Gracias por la dedicación y el interés que han prestado a esta investigación y sobre todo por las valiosas sugerencias que aportaron a lo largo del desarrollo de la misma. De la misma forma, agradezco la colaboración de la Dra. Rebeca Franco en la

redacción de los artículos publicados. No cabe duda que su participación enriqueció los resultados de este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a mis compañeros y amigos egresados del laboratorio 34 del Departamento de Farmacología del CINVESTAV: Dr. Abdieel Esquivel, Dr. Orlando Jacobo, Dr. Rodrigo González, Dra. Maripaz Márquez y Dra. Olivid Huerta, gracias por su invaluable amistad y por hacer divertido este trayecto, sin su presencia nada hubiera sido igual. Del mismo laboratorio, doy las gracias a quienes aún siguen perseverando en alcanzar la misma meta: Lili, Ari y Lore, gracias por mostrarme su apoyo cuando lo he necesitado y por darle vida al lab. También agradezco a Paty, por facilitarme algunas ratitas cuando las necesité. Y un especial agradecimiento a Lulú, por estar siempre al pie del cañón y facilitarnos los materiales y todo cuanto necesitemos. No cabe duda que sin su intervención, el laboratorio no se mantendría en pie. ¡Gracias Lulú por el enorme esfuerzo que haces para que funcione!

Asimismo, agradezco a todo el personal de Proyecto Camina, por facilitarme el acceso a las instalaciones, así como proporcionarme los animales necesarios para llevar a cabo los experimentos de la presente investigación; en especial al Dr. Gabriel Guízar por la confianza y el apoyo brindado.

Este trabajo no hubiera sido posible sin la contribución y el apoyo del Sr. Julio Sánchez<sup>†</sup>, quien me enseñó a cuidar, manejar y canular a las ratitas; de la M.V.Z. Angelina Martínez, cuyo apoyo fue fundamental para llevar a cabo las lesiones y de Karla I. González, con quien tuve la dicha de trabajar en el desarrollo de su tesis de Licenciatura y de quien conservo una hermosa amistad.

No puedo dejar de agradecer al CONACYT por el apoyo económico brindado a través de la beca 240079 y por la beca mixta otorgada, la cual me abrió las puertas hacia nuevos horizontes.

Tampoco puedo olvidar a los amigos que han sido testigos de lo bueno y lo malo de este trayecto. En especial a Auro y a Blanca, con quienes pasé las mejores tertulias animándonos y apoyándonos mutuamente para no desfallecer en el intento de alcanzar esta meta.

Por supuesto que esto no hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de mis padres; en especial el de mi madre, quien se encargó de darme la mejor herencia que alguien puede tener: educación. Gracias ma por todos y cada uno de los esfuerzos que has hecho por darnos más de lo que puedes. Gracias por motivarme a alcanzar mis metas y a superarme día a día. ¡Eres la mejor! Con especial afecto agradezco a mi abue, quien ha sido una inspiración constante en mi vida. Queridita, gracias por tu amor incondicional y por brindarme un ejemplo de rectitud y fortaleza. Asimismo, agradezco a mis hermanos: Aisha y Xavier, por su cariño y apoyo a lo largo de toda una vida juntos.

Finalmente, me gustaría mostrar mi mayor agradecimiento a la persona que estuvo conmigo en todos y cada uno de los días de este trayecto acompañándome, escuchándome, apoyándome, motivándome, pero sobre todo amándome: Israel, mi esposo, confidente y amigo, gracias por tu paciencia y comprensión. Si bien no ha sido un camino fácil, doy gracias a Dios por permitirme recorrerlo contigo, porque a pesar de todo, ¡ha valido la pena! Y confío en Él en que al igual que tu lo has hecho conmigo, yo también pueda acompañarte en tus proyectos futuros. Mientras tanto, sólo te puedo decir: gracias por caminar junto conmigo. ¡Te amo!

Gracias a todos por ayudarme a alcanzar esta meta, pero sobre todo, por permitirme disfrutar de todo el camino recorrido. De corazón, ¡MUCHAS GRACIAS!

**Resultados de esta investigación se encuentran publicados en:**

- Rodríguez-Romero, V., González-Villalva K. I., Reyes J. L., Franco-Bourland R. E., Guízar-Sahagún G., Castañeda-Hernández G. and Cruz-Antonio L. (2015). "A novel, simple and inexpensive procedure for the simultaneous determination of iopamidol and p-aminohippuric acid for renal function assessment from plasma samples in awake rats." J Pharm Biomed Anal **107**: 196-203.
- Rodríguez-Romero, V., Cruz-Antonio L., Franco-Bourland R. E., Guízar-Sahagún G. and Castañeda-Hernández G. (2013). "Changes in renal function during acute spinal cord injury: implications for pharmacotherapy." Spinal Cord **51**(7): 528-531.

**Adicionalmente se encuentra en preparación:**

- Rodríguez-Romero, V., Cruz-Antonio L., Guízar-Sahagún G., Reyes J. L., and Castañeda-Hernández G. (2015). "Impact of the injury level on renal function during acute spinal cord injury." Kidney International.
- Rodríguez-Romero, V., Velez de Mendizabal N., Reyes J. L., Cruz-Antonio L., Castañeda-Hernández G., and Bies R. (2015). "A population pharmacokinetic approach to describe renal function after spinal cord injury."

## CONTENIDO.

<b>CONTENIDO</b>	i
<b>LISTA DE TABLAS</b>	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	x
<b>RESUMEN</b>	xiii
<b>ABSTRACT</b>	xv

### 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Lesión Medular	1
1.1.1. Clasificación	2
1.1.2. Estadísticas	3
1.1.3. Tratamiento farmacológico tras una lesión medular	5
1.1.4. Fisiopatología de una lesión medular	7
1.1.5. Consecuencias de una lesión medular	9
1.1.5.1. Alteraciones sistémicas y metabólicas	9
1.1.5.2. Alteraciones farmacocinéticas en estudios clínicos y en modelos experimentales	11
1.1.5.3. Alteraciones hemodinámicas	14
1.1.6. Importancia y descripción de los modelos experimentales de lesión medular	16
1.2. Eliminación renal	17
1.2.1. Funciones del riñón	19
1.2.2. Irrigación renal	21
1.2.3. Filtración Glomerular	22
1.2.4. Secreción Tubular	23
1.2.5. Depuración renal	24
1.2.6. Marcadores de filtración glomerular	24



1.3. Iopamidol	
1.3.1. Estructura y propiedades	27
1.3.2. Farmacocinética	28
1.3.3. Ventajas	28
1.4. Ácido para-amino hipúrico	
1.4.1. Estructura y propiedades	30
1.4.2. Farmacocinética y sus ventajas	30
<b>2. JUSTIFICACIÓN.</b>	<b>31</b>
<b>3. HIPÓTESIS.</b>	<b>33</b>
<b>4. OBJETIVOS.</b>	<b>33</b>
4.1. Objetivo general.	
4.2. Objetivos particulares.	
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	<b>34</b>
5.1. Cuantificación simultánea de iopamidol y PAH en plasma de rata mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución.	36
5.1.1. Equipo y condiciones cromatográficas.	36
5.1.2. Soluciones para el análisis por CLAR.	36
5.1.2.1. Preparación de la fase móvil.	36
5.1.2.2. Preparación del estándar interno.	37
5.1.2.3. Preparación del extrayente.	37
5.1.2.4. Preparación de soluciones estándar.	37
5.1.2.4.1. Iopamidol	37
5.1.2.4.2. PAH	38

5.1.3. Extracción de iopamidol y del PAH del plasma de rata	38
5.1.4. Muestras blanco para la validación.	38
5.1.5. Muestras de tratamientos	39
5.2. Validación del método analítico.	39
5.2.1. Selectividad.	39
5.2.2. Curvas de calibración.	40
5.2.3. Recobro	41
5.2.4. Precisión y exactitud.	41
5.2.4.1. Repetibilidad (intradía).	42
5.2.4.2. Reproducibilidad (interdía).	42
5.2.5. Límite de cuantificación.	43
5.2.6. Límite de detección.	43
5.2.7. Estabilidad.	43
5.2.7.1. Ciclos de congelación/descongelación.	44
5.2.7.2. Estabilidad a largo plazo.	44
5.2.7.3. Estabilidad a corto plazo.	44
5.2.8. Tolerancia.	44
5.3. Estudio farmacocinético.	45
5.3.1. Animales de experimentación.	45
5.3.2. Anestesia.	46
5.3.3. Cirugía control.	46
5.3.4. Lesión medular a nivel T1 y T8.	46
5.3.5. Cuidados post-operatorios.	47
5.3.6. Administración del fármaco.	47
5.3.7. Toma de muestras.	48
5.3.8. Análisis de muestras.	48

5.4. Evaluación de la función renal tras una lesión medular.	49
5.4.1. Efecto del nivel de la lesión medular sobre la farmacocinética de iopamidol y del PAH tras una administración intravenosa.	49
5.4.2. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética de iopamidol y del PAH tras una administración intravenosa.	49
5.5. Determinación de los parámetros farmacocinéticos.	50
5.6. Análisis estadístico.	50
<b>6. RESULTADOS.</b>	
6.1. Validación del método analítico.	51
6.1.1. Selectividad.	51
6.1.2. Curvas de calibración.	52
6.1.3. Recobro.	53
6.1.4. Precisión y exactitud.	53
6.1.5. Límite de cuantificación.	55
6.1.6. Límite de detección.	55
6.1.7. Estabilidad.	56
6.1.8. Tolerancia.	58
6.2. Evaluación de los marcadores de función renal.	58
6.2.1. Iopamidol como marcador de filtración glomerular.	58
6.2.2. PAH como marcador de filtración glomerular.	60
6.3. Influencia de la lesión medular sobre la eliminación renal.	60
6.3.1. Efecto del nivel de la lesión medular aguda sobre la farmacocinética de iopamidol.	61

6.3.2. Efecto del nivel de la lesión medular aguda sobre la farmacocinética del PAH.	64
6.3.3. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética de iopamidol.	68
6.3.4. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética del PAH.	70
<b>7. DISCUSIÓN.</b>	<b>73</b>
7.1. Validación del método analítico por CLAR	79
7.2. Evaluación de la función renal utilizando iopamidol y PAH como marcadores de filtración glomerular y secreción tubular.	82
7.3. Influencia de la lesión medular sobre la eliminación renal.	85
7.3.1. Efecto del nivel de la lesión medular sobre la eliminación renal durante el choque espinal.	85
7.3.2. Efecto del tiempo de la lesión medular sobre la eliminación renal.	91
7.4. Implicaciones del estudio	97
<b>8. CONCLUSIONES.</b>	<b>100</b>
<b>9. PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO.</b>	<b>101</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>102</b>
<b>11. ANEXOS.</b>	<b>113</b>

## LISTA DE TABLAS.

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Esperanza de vida (en años) tras una lesión medular.	5
<b>Tabla 2.</b> Intervenciones farmacológicas tras una lesión aguda.	6
<b>Tabla 3.</b> Mecanismos primarios y secundarios de la lesión aguda de médula espinal.	8
<b>Tabla 4.</b> Principales cambios metabólicos después de una lesión traumática de médula espinal.	9
<b>Tabla 5.</b> Principales consecuencias de la desconexión de los centros autonómicos espinales después de la lesión traumática de médula espinal.	10
<b>Tabla 6.</b> Ventajas y limitantes de los marcadores de filtración renal.	26
<b>Tabla 7.</b> Propiedades físicas de los medios de contraste.	29
<b>Tabla 8.</b> Curva de calibración para la determinación simultánea de iopamidol y PAH.	40
<b>Tabla 9.</b> Preparación de los puntos control.	42
<b>Tabla 10.</b> Diseño experimental etapa 2.	45
<b>Tabla 11.</b> Diseño experimental etapa 3.	45
<b>Tabla 12.</b> Curva de calibración del método para el iopamidol.	52
<b>Tabla 13.</b> Curva de calibración del método para el PAH.	52
<b>Tabla 14.</b> Curvas estándar de iopamidol y del PAH en agua y en plasma.	54
<b>Tabla 15.</b> Precisión y exactitud intra-día e inter-día para la determinación de iopamidol.	54
<b>Tabla 16.</b> Precisión y exactitud intra-día e inter-día para la determinación del PAH.	54
<b>Tabla 17.</b> Determinación del límite de cuantificación de iopamidol y del PAH.	55

<b>Tabla 18.</b>	Resultados del límite de detección de iopamidol y del PAH.	56
<b>Tabla 19.</b>	Estabilidad del manejo de la muestra en plasma.	56
<b>Tabla 20.</b>	Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol y el PAH.	59
<b>Tabla 21.</b>	Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol tras una lesión aguda.	61
<b>Tabla 22.</b>	Parámetros farmacocinéticos para el PAH tras una lesión aguda.	65
<b>Tabla 23.</b>	Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol tras una lesión a nivel T8.	69
<b>Tabla 24.</b>	Parámetros farmacocinéticos para el PAH tras una lesión a nivel T8.	72
<b>Tabla 25.</b>	Datos comparativos de la hemodinámica renal de distintas fuentes literarias.	83

## LISTA DE FIGURAS.

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Clasificación de la lesión traumática de médula espinal, según el nivel del daño.	3
<b>Figura 2.</b> Porcentaje de la población mexicana con discapacidad según la dificultad en la actividad.	3
<b>Figura 3.</b> Etiología de la lesión medular hasta el año 2014.	4
<b>Figura 4.</b> Categorías neurológicas más frecuentes.	4
<b>Figura 5.</b> Mecanismos posibles de una lesión traumática de médula espinal.	8
<b>Figura 6.</b> Anatomía del riñón.	17
<b>Figura 7.</b> Procesos básicos en la excreción renal	18
<b>Figura 8.</b> Estructura de la pared del capilar glomerular y valores típicos de las presiones que determinan la filtración.	23
<b>Figura 9.</b> Estructura química del iopamidol.	28
<b>Figura 10.</b> Estructura química del PAH.	30
<b>Figura 11.</b> Diagrama de flujo de las etapas del estudio.	34
<b>Figura 12.</b> Metodología de la etapa 3.	35
<b>Figura 13.</b> Cromatogramas representativos.	51
<b>Figura 14.</b> Curvas de calibración del método analítico para la determinación de iopamidol y PAH en plasma de rata.	53
<b>Figura 15.</b> Estabilidad a largo plazo de iopamidol y del PAH en plasma de rata.	57
<b>Figura 16.</b> Estabilidad a corto plazo de iopamidol y del PAH en plasma de rata.	57
<b>Figura 17.</b> Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol	59
<b>Figura 18.</b> Concentraciones plasmáticas promedio de PAH	60
<b>Figura 19.</b> Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol tras una lesión aguda.	62

<b>Figura 20.</b>	Cambios en la concentración plasmática inicial de iopamidol	62
<b>Figura 21.</b>	Cambio en los parámetros farmacocinéticos de iopamidol tras una lesión aguda.	63
<b>Figura 22.</b>	Consecuencias del cambio en la depuración de iopamidol	64
<b>Figura 23.</b>	Concentraciones plasmáticas promedio del PAH tras una lesión aguda.	65
<b>Figura 24.</b>	Cambios en la concentración plasmática inicial del PAH	66
<b>Figura 25.</b>	Cambio en los parámetros farmacocinéticos del PAH tras una lesión aguda.	67
<b>Figura 26.</b>	Consecuencias del cambio en la depuración del PAH	67
<b>Figura 27.</b>	Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol tras una lesión a nivel T8.	68
<b>Figura 28.</b>	Cambios en la concentración plasmática inicial de iopamidol 24 h y 14 días después de la LM	69
<b>Figura 29.</b>	Cambios en la depuración de iopamidol en función al tiempo	70
<b>Figura 30.</b>	Concentraciones plasmáticas promedio de PAH tras una lesión a nivel T8.	71
<b>Figura 31.</b>	Cambios en la concentración plasmática inicial del PAH 24 h y 14 días después de la LM	71
<b>Figura 32.</b>	Cambios en la depuración del PAH en función al tiempo	72
<b>Figura 33.</b>	Flujo microvascular sanguíneo en el riñón durante el choque espinal	87
<b>Figura 34.</b>	Cambios temporales en el flujo microvascular sanguíneo en el riñón	93
<b>Figura 35.</b>	Diagrama del mecanismo propuesto por el cual se altera la función renal en presencia de una lesión medular	96



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABC</b>	Área bajo la curva
<b>ACN</b>	Acetonitrilo
<b>ACTH</b>	Hormona adrenocorticotropa
<b>AINE's</b>	Antiinflamatorios no esteroideos
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>C</b>	Concentración
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ión calcio
<b>CCl<sub>3</sub>COOH</b>	Ácido tricloro acético
<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	Ácido acético
<b>Cl</b>	Depuración
<b>CLAR</b>	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés)
<b>cm</b>	Centímetros
<b>Cp<sup>0</sup></b>	Concentración plasmática al tiempo cero
<b>CV</b>	Coefficiente de variación
<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>DI</b>	Diámetro Interno
<b>EE</b>	Error estándar
<b>EI</b>	Estándar Interno
<b>FG</b>	Filtración glomerular
<b>FMVS</b>	Flujo sanguíneo microvascular (MVBF por sus siglas en inglés)
<b>g</b>	Gramos
<b>GI</b>	Gastrointestinal
<b>H<sup>+</sup></b>	Ión hidrógeno
<b>h</b>	Horas
<b>ICAM-1</b>	Molécula de adhesión inter-celular 1

<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>INEGI</b>	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
<b>IV</b>	Vía intravenosa
<b>K<sup>+</sup></b>	Ion potasio
<b>LC</b>	Límite de cuantificación
<b>LD</b>	Límite de detección
<b>LM</b>	Lesión medular
<b>ME</b>	Médula espinal
<b>min</b>	Minutos
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>µg</b>	Microgramos
<b>µL</b>	Microlitros
<b>n</b>	Cantidad de animales
<b>Na<sup>+</sup></b>	Ión sodio
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Ión amonio
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>NT</b>	Neurotransmisores
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>p</b>	Probabilidad
<b>PABA</b>	Ácido para amino benzoico
<b>PAH</b>	Ácido para amino hipúrico
<b>PE</b>	Polietileno
<b>PM</b>	Peso molecular
<b>r<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinación
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>RPV</b>	Resistencia Periférica Vasular
<b>SC</b>	Vía subcutánea
<b>SCI</b>	Por sus siglas en inglés: Spinal Cord Injury (LM)

<b>SNA</b>	Sistema nervioso autónomo
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>ST</b>	Secreción tubular
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tiempo de vida media
<b>T1</b>	Primera zona medular
<b>T8</b>	Octava zona medular
<b>TFG</b>	Tasa de Filtración Glomerular
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>Vd</b>	Volumen de distribución

## RESUMEN.

Existen estudios clínicos y experimentales que indican que la Lesión Medular (LM) produce múltiples alteraciones tanto sistémicas como metabólicas que pueden interferir con la eficacia y seguridad en el uso de medicamentos. A pesar de que se han realizado diversos estudios en relación a la función renal en LM, la mayoría de ellos se basa en la medición de creatinina, la cual ha demostrado ser insuficientemente sensible para detectar alteraciones renales en pacientes lesionados. De aquí surge la necesidad de contar con los marcadores adecuados para determinar la función renal en pacientes con LM.

Por lo tanto, el propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto de la LM en la función renal utilizando como marcadores de la dinámica renal al iopamidol, un medio de contraste cuya eliminación es puramente por Filtración Glomerular (FG), y al ácido *p*-amino hipúrico (PAH), marcador de secreción tubular (ST).

Con este propósito, se utilizaron 36 ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley de 250 g de peso promedio, divididas en seis grupos. Tres de ellos fueron sometidos a laminectomía a nivel torácico 1 (T1) u 8 (T8) seguida de una LM ocasionada por la caída controlada de una bala en la médula expuesta. Los otros tres grupos, sometidos únicamente a una lesión “fingida”, sirvieron como controles. A todos los grupos se les co-administró iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg) y PAH (100 mg/kg) por vía intravenosa (IV) ya sea 24 h o 14 días después de ocurrida la lesión, se tomaron muestras de sangre durante 3 h, se cuantificó el iopamidol y el PAH presente en las muestras por medio de un método de cromatografía líquida de alta resolución y se calcularon los parámetros farmacocinéticos. Las comparaciones entre grupos lesionados y controles se realizaron por medio de un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Dunnett.

Como resultado del estudio farmacocinético, se observó que la LM en su etapa aguda disminuyó la depuración de ambos fármacos de manera significativa, siendo dicho cambio aún más drástico a un nivel más alto (T1). En contraste, se observó que los cambios en la FG lograron volver a su estado inicial tras un periodo de 14 días después de ocurrida la LM. Sin embargo, la secreción tubular en esta etapa incrementó de manera significativa con respecto al control.

Los resultados sugieren que los cambios en la eliminación renal son temporales y están afectados directamente por el nivel de la lesión, coincidiendo con los cambios en el flujo sanguíneo renal. Asimismo, dichos cambios apuntan a que tanto la FG como la ST son mecanismos que interactúan entre sí para alcanzar la homeostasis en el organismo.

## **ABSTRACT.**

There are clinical and experimental studies which suggest that Spinal Cord Injury (SCI) produces multiple systemic and metabolic alterations that could interfere with the efficacy and safety of drug use. Although there have performed several studies related to renal function in SCI, most of them are wrongly based on creatinine measurement, which has proved to be insufficiently sensitive to detect renal alterations in injured patients. Thus, the need for appropriate markers to determine renal function in patients with SCI becomes evident.

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the effect of the SCI on renal function using iopamidol, a contrast media whose elimination is entirely by glomerular filtration (GFR), and *p*-aminohippuric acid (PAH) as GFR and tubular secretion (TS) markers.

For this purpose, 36 female Sprague-Dawley rats of average weight 250 g, were used and divided into six groups. Three of them were subjected to laminectomy at thoracic level 1 (T1) or 8 (T8) followed by a SCI caused by the controlled fall of a bullet in the spinal cord exposed. The other three groups, subjected only to a “sham” injury, served as controls. All groups were co-administered with iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg) and PAH (100 mg/kg) intravenously (IV) either 24h or 14 days after the injury, and blood samples were taken for 3 h. Iopamidol and PAH were quantified by a high performance liquid chromatographic method and its pharmacokinetics parameters were calculated. Comparisons between injured and control groups were performed by an analysis of variance (ANOVA) followed by a Dunnett’s test.

As a result of the pharmacokinetic study, it was observed that acute SCI significantly decreased clearance of both drugs, which was even more drastic at a higher level of the injury (T1). In contrast, it was noted that changes in GFR

succeeded to return to its initial values 14 days after the injury. However, during the same stage TS significantly increased regarding to its control.

The results suggest that changes in renal elimination are temporary and are directly affected by the level of the injury, in agreement with changes in renal blood flow. Furthermore, these changes indicate that both, GFR and TS, are mechanisms that interact to achieve the homeostasis in the body.

## 1. INTRODUCCIÓN.

### 1.1. Lesión Medular.

La lesión medular (LM) es una de las lesiones que más incapacita a una persona debido a sus efectos devastadores sobre la calidad de vida de las víctimas de la misma. Esta hace referencia a los daños sufridos en la médula espinal a consecuencia de un traumatismo o de una enfermedad (OMS, 2013).

Más allá de la pérdida de los movimientos voluntarios y la sensibilidad, la LM provoca que los axones se corten o se dañen irreparablemente y que se rompan las membranas de las células neurales. En cuestión de minutos, los vasos sanguíneos pueden romperse y causar hemorragia intensa en la zona central de la sustancia gris, la cual puede propagarse a otras áreas de la médula espinal (ME) a las pocas horas después de la lesión. Esto mismo ocasiona que la ME se hinche y esta hinchazón corte el flujo sanguíneo, lo cual a su vez interrumpe el flujo de oxígeno y nutrientes a las neuronas, causando la muerte de muchas de ellas (McDonald y Sadowsky, 2002).

Las alteraciones producidas a causa de la LM difieren entre las etapas temprana y crónica de la lesión. Aparentemente, las alteraciones iniciales podrían estar relacionadas con la pérdida de la actividad refleja espinal por debajo e inmediatamente por encima del nivel de la lesión en la etapa conocida como “*choque medular*”, que puede durar de varias horas hasta varios días después de ocurrida la lesión. Mientras que en las etapas tardías, la disfunción podría estar asociada con los cambios plásticos en la ME y otros tejidos (Guízar-Sahagún et al., 1998). Asimismo, la severidad de dichas alteraciones parece depender tanto del nivel como de la intensidad de la lesión; esto es, mientras más alto sea el nivel o mayor sea la intensidad de la lesión, mayor será el daño producido (Guízar-Sahagún et al., 2004; Teasell, Arnold, Krassioukov y Delaney, 2000).



### 1.1.1. Clasificación

El sistema de clasificación mayormente usado entre los médicos que tratan lesiones medulares clasifica dichas lesiones en dos (Kirshblum et al., 2011):

- ⌘ Completa: Se define como la ausencia de la función motora y sensorial en los segmentos por debajo del nivel de la lesión, es decir, que los movimientos voluntarios y la sensibilidad no son posibles. Por otro lado, son bilaterales, ya que ambos lados del cuerpo se ven afectados del mismo modo.
- ⌘ Incompleta: Este término es usado cuando el paciente puede tener algo de sensibilidad y/o función motora por debajo del nivel de la lesión. Son lesiones variables.

De la misma forma, de acuerdo al nivel de la lesión pueden distinguirse otras dos (Fig. 1):

- ⌘ Paraplejia: Consiste en la parálisis de las extremidades inferiores de todo el tronco o una porción de él. Se pierde la sensación y no se es capaz de mover las partes inferiores del cuerpo. Es causada por lesiones en el área dorsal, lumbar o sacra y el paciente posee aproximadamente un 90% de esperanza de vida.
- ⌘ Tetraplejia o cuadriplejia: También se ven afectados los brazos. Existe una pérdida del movimiento y sensación en ambas partes, superior e inferior del cuerpo. Es causada por lesiones en el área cervical y existe un 85% de esperanza de vida. Los pacientes con este tipo de lesión, tienden a ser hipotensos y sufren de bradicardias (Guha y Tator, 1988; Tator y Fehlings, 1991).

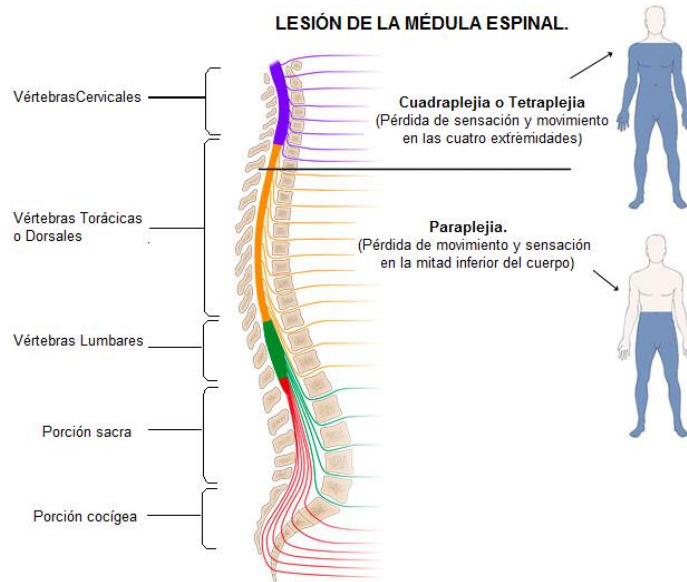


Fig. 1. Clasificación de la LM, según el nivel del daño.

### 1.1.2. Estadísticas.

De acuerdo al censo del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2010), hasta el año 2010 habían 5 739 270 personas con discapacidad en México, correspondientes al 5.1% de la población total. De estas personas con discapacidad, 58.3% sufren de una discapacidad motriz, existiendo alrededor de medio millón de individuos en esta condición debido a un accidente (Fig. 2).

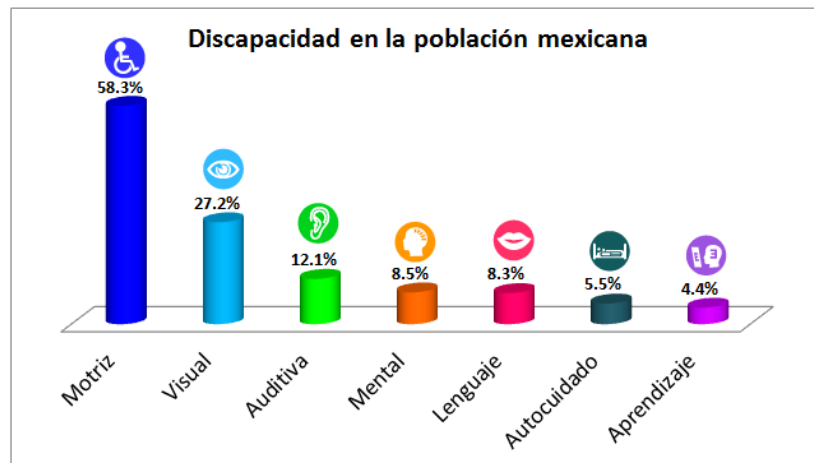


Fig. 2. Porcentaje de la población mexicana con discapacidad según la dificultad en la actividad (INEGI, 2010).

Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013), reporta que entre 250 000 y 500 000 personas sufren cada año en todo el mundo lesiones medulares. En su mayoría, dichas lesiones se deben a causas prevenibles, como accidentes de tránsito, caídas o actos de violencia (Fig. 3).

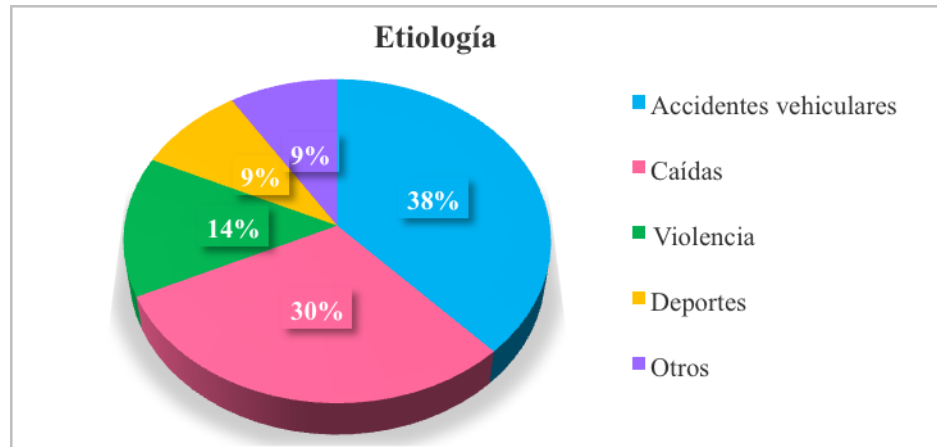


Fig. 3. Etiología de la LM hasta el año 2014 (Center, 2014).

Asimismo, de acuerdo al Centro Estadístico Nacional Estadounidense de LM, la categoría neurológica más frecuente es la tetraplejía incompleta seguida de la paraplejía incompleta, paraplejía completa y tetraplejía completa (Fig. 4) (Center, 2014).

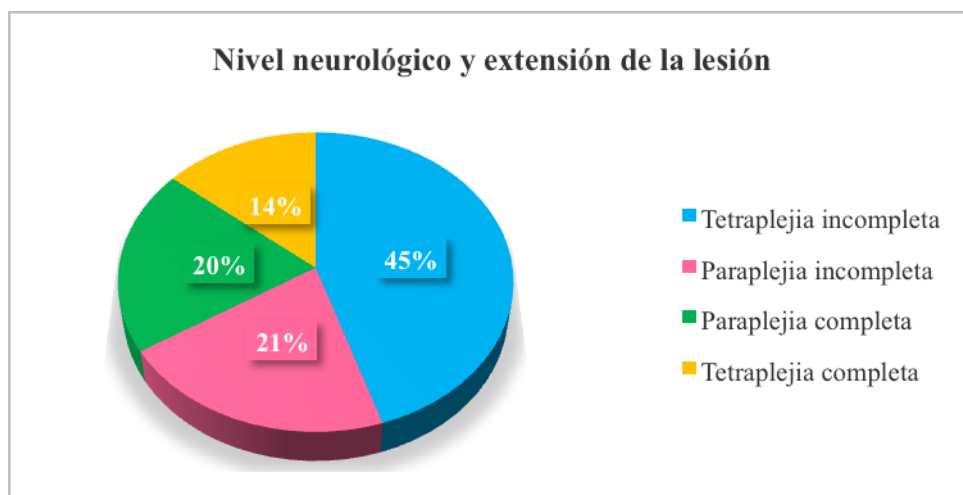


Fig. 4. Categorías neurológicas más frecuentes (Center, 2014).

En cuanto a la esperanza de vida de los lesionados medulares, esta sigue siendo significativamente más baja que para aquellos sin LM. La tabla 1 muestra claramente cómo depende de la severidad de la lesión y de la edad en la cual se sufrió. Cabe mencionar que la tasa de mortalidad es significativamente mayor durante el primer año después de la lesión que durante los años subsiguientes, particularmente en las personas con lesiones severas (Center, 2014).

**Tabla 1. Esperanza de vida (en años) tras una LM.**

Edad	Para personas que sobreviven las primeras 24 h		Para personas que sobreviven al menos el primer año	
	Paraplejia	Tetraplejia	Paraplejia	Tetraplejia
<b>20</b>	45	35 – 40	45	37 – 40
<b>40</b>	27	20 – 23	28	21 – 24
<b>60</b>	13	8 – 10	13	8 – 10

(Center, 2014)

### 1.1.3. Tratamiento farmacológico tras una LM.

El tratamiento de LM consiste en un esfuerzo que abarca múltiples disciplinas que van desde la inmovilización prehospitalaria a la atención quirúrgica momentos después de ocurrida la lesión y en algunos casos, se extiende por el resto de la vida del paciente (Fehlings, Cadotte y Fehlings, 2011). Las intervenciones terapéuticas potenciales después de una LM pertenecen a una o más categorías generales: neuroprotección, reparación o regeneración, mejora de la plasticidad, reemplazo o asistencia de función (Steeves et al., 2007).

Dentro de los fármacos administrados para reducir el daño neurodegenerativo ocasionado por la LM, se encuentran la eritropoyetina, la minociclina, la progesterona y el estrógeno, entre otros (tabla 2) (Fehlings et al., 2011). Por su parte, las terapias de regeneración consisten en el trasplante de macrófagos, células madre de la médula ósea, células gliales olfatorias nasales, células Schwann, o células humanas madre o

de progenitor (derivadas de fuentes embrionarias o adultas, incluyendo cordón umbilical, tejido neural, etc). Sin embargo, ninguna de estas terapias ha sido llevada a la clínica, ya que aún no se ha validado ni aprobado para su venta. En casos de lesiones incompletas, la rehabilitación activa y el adiestramiento con soporte de peso corporal son los tratamientos que se utilizan para mejorar la plasticidad del SNC. Finalmente, la estimulación eléctrica funcional de distintos nervios o músculos destaca dentro de los tratamientos para asistir diversos impedimentos funcionales; sin limitarse a la función de reemplazo, también puede promover la plasticidad. No obstante, la efectividad de los dispositivos con los que se lleva a cabo dicha estimulación, generalmente depende de la precisión con la que la tecnología concuerde con la discapacidad específica de cada individuo (Steeves et al., 2007).

**Tabla 2. Intervenciones farmacológicas tras una lesión aguda.**

<b>Clasificación</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Propósito terapéutico</b>	<b>Mecanismo de excreción</b>
<b>Corticosteroides antiinflamatorios</b>	Metilprednisolona	Reducir el edema de la ME	Principalmente renal $t_{1/2} = 18 - 36$ h
<b>Gangliósidos</b>	GM-1 gangliósido o Sygen®	Efectos neuroprotectivos	Renal y fecal
<b>Antagonistas opiáceos</b>	Naloxona	Promover la recuperación motora y sensorial	Mayormente renal $t_{1/2} = 64$ min
<b>Antagonistas del receptor glutamato</b>	Gaciclidina	Aminorar el daño neurológico después de la lesión *	
<b>Bloqueadores del canal de Calcio</b>	Nimodipina	Mejorar el flujo sanguíneo de la ME y revertir la hipoperfusión *	Renal
<b>Bloqueadores del canal de Sodio</b>	Tetrodotoxina  Riluzol	Mejorar los resultados funcionales*  Efectos neuroprotectivos	Principalmente renal $t_{1/2} = 9 - 15$ h
<b>AINE's</b>	Ibuprofeno Meclofenamato	Mantener el flujo sanguíneo de la ME*	Mayormente renal

Continuación tabla 2.

Clasificación	Fármaco	Propósito terapéutico	Mecanismo de excreción
<b>Inmunosupresores</b>	Tacrolimus	Promover la regeneración neuronal en el SNC*	Renal $t_{1/2} = 12$ h
	Ciclosporina	Impedir apoptosis, preservar el tejido e inhibir la peroxidación lipídica	Biliar y renal $t_{1/2} = 19$ h

\*En LM experimental (en animales)

(Kwon, Tetzlaff, Grauer, Beiner y Vaccaro, 2004)

#### 1.1.4. Fisiopatología de una LM.

Existen dos mecanismos sumamente importantes que describen los daños producidos por una LM (Kwon et al., 2004; Taoka y Okajima, 1998) (Fig. 5, Tabla 3):

- ☞ Daño primario: Se refiere a la alteración inmediata o daño físico que sufre la médula espinal como resultado del trauma o manipulación mecánica. (Nockels, 2001). Dentro de los cambios patológicos que ocurren se incluyen el daño a los axones, el daño mecánico directo a las células neurales y la ruptura de vasos sanguíneos que puede causar hemorragias (Webb, Ngan y Fowler, 2010). Este daño abarca el momento de la lesión y se extiende durante los primeros días (Hulsebosch, 2002).
- ☞ Daño secundario: Este mecanismo es de suma importancia ya que es responsable de la expansión del daño primario y se produce como consecuencia de múltiples eventos autodestructivos (Hulsebosch, 2002; Nockels, 2001; Webb et al., 2010). Dentro de éstos se encuentran las alteraciones en las concentraciones iónicas locales (Kwo, Young y Decrescito, 1989), la pérdida de la regulación de la presión sanguínea sistémica y local (Krassioukov y Claydon, 2006), la reducción del flujo sanguíneo de la médula espinal (Tator y Fehlings, 1991), la producción

de radicales libres y la liberación excesiva de neurotransmisores citotóxicos que provoca la autodestrucción de las células nerviosas (Hall y Springer, 2004; Shuman, Bresnahan y Beattie, 1997). Este daño se produce en el transcurso de minutos a semanas (Hulsebosch, 2002).

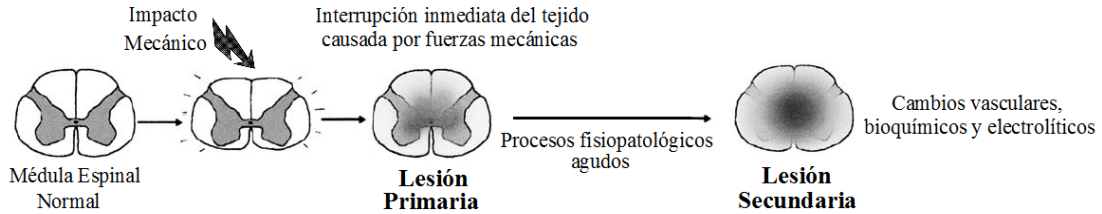


Fig. 5. Mecanismos posibles de una LM (Kwon et al., 2004).

Tabla 3. Mecanismos primarios y secundarios de la lesión aguda de médula espinal.

Mecanismos de lesión primaria	Mecanismos de lesión secundaria	
Compresión aguda Impacto Disparos Distracción Laceración	<u>*Cambios vasculares</u>	<u>*Cambios bioquímicos</u>
	Pérdida de la autorregulación	Acumulación de neurotransmisores
	Hipotensión sistémica	Liberación de aminoácidos
	Hemorragia en la médula	Producción de radicales libres
	Pérdida de la microcirculación	Producción de eicosanoides
	Reducción en el flujo sanguíneo	Peroxidación lipídica
	Isquemia y reperfusión	
		*Edema
	<u>*Cambios electrolíticos</u>	<u>*Pérdida del metabolismo energético</u>
	Aumento del Ca <sup>2+</sup> intracelular	Disminuye producción de ATP
Aumento de K <sup>+</sup> extracelular		
Aumenta permeabilidad del Na <sup>+</sup>		

(Tator y Fehlings, 1991)

### 1.1.5. Consecuencias de una LM.

#### 1.1.5.1. Alteraciones sistémicas y metabólicas.

Se ha visto que la LM produce importantes alteraciones sistémicas y metabólicas que podrían estar involucradas no solo en las complicaciones de rehabilitación sino en la inadecuada terapia farmacológica. Algunas alteraciones metabólicas, incluidas las relacionadas a la composición corporal y al balance de fluidos y electrolitos (tabla 4) se han asociado con la parálisis motora y la subsecuente atrofia muscular. Sin embargo, la mayoría de las alteraciones sistémicas y metabólicas están asociadas con el desorden en las funciones reguladas por el sistema nervioso autónomo (SNA) (Guízar-Sahagún et al., 1998).

**Tabla 4. Principales cambios metabólicos después de la LM.**

Sistema alterado	Durante choque espinal	Estado crónico
<b>Composición corporal</b>	Pérdida progresiva de peso corporal	Disminuye la masa magra <sup>a</sup> e incrementa la grasa corporal
<b>Balance de fluidos y electrolitos</b>	Incremento relativo del fluido extracelular al intracelular	Hiponatremia

<sup>a</sup> Masa libre de grasa.

(Guízar-Sahagún et al., 1998)

La desconexión de los centros espinales autonómicos trae como principales consecuencias: la disfunción de los sistemas cardiovascular, gastrointestinal (GI), renal, endócrino e inmune (Tabla 5). Las alteraciones difieren entre la etapa temprana y crónica de la lesión. Aparentemente, las alteraciones tempranas pueden estar relacionadas con la pérdida de la actividad refleja espinal por debajo e inmediatamente por encima del nivel de la lesión en la etapa conocida como choque espinal, mientras que en la etapa tardía de la lesión, la disfunción podría estar asociada a cambios plásticos en la médula espinal y otros tejidos (Guízar-Sahagún et al., 1998).



Dentro de las alteraciones cardiovasculares tempranas, destacan la bradicardia y la hipotensión, las cuales han sido atribuidas a un desequilibrio autonómico debido a la predominancia de la actividad simpática y a la pérdida temporal del tono simpático por debajo del nivel de la lesión (Atkinson y Atkinson, 1996). Como consecuencia, tanto en las etapas tempranas como en las tardías, puede presentarse un fenómeno conocido como disreflexia autonómica, caracterizado por una extrema hipertensión acompañada de un fuerte dolor de cabeza, ritmo cardiaco lento y en ocasiones, enrojecimiento de la parte superior del cuerpo (Krassioukov y Claydon, 2006).

En una lesión aguda, el flujo plasmático renal disminuye significativamente. Generalmente es menor en personas con lesiones cervicales que en parapléjicos, y es peor en mujeres y pacientes mayores que en hombres y pacientes jóvenes. Por su parte, la depuración renal incrementa significativamente durante los dos primeros años después de la lesión y disminuye significativamente posteriormente (Klingensmith et al., 1996).

**Tabla 5. Principales consecuencias de la desconexión de los centros autonómicos espinales después de una LM.**

Sistema alterado	Alteraciones tempranas durante la fase de choque espinal	Alteraciones tardías durante el estado crónico.
Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bradicardia</li> <li>• Hipotensión</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bradicardia<sup>a</sup></li> <li>• Hipotensión<sup>a</sup> postural</li> </ul>
GI	Baja motilidad GI <sup>b</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tránsito GI prolongado</li> <li>• Dificultad para la evacuación</li> <li>• Esofagitis y gastritis</li> </ul>
Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ flujo plasmático renal</li> <li>• ↑ depuración renal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ depuración renal</li> <li>• Falla renal</li> </ul>
Endócrino y metabólico	Niveles plasmáticos disminuidos (↓) de: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hormona paratiroidea</li> <li>• Hormonas tiroideas</li> <li>• Albúmina</li> <li>• Vitamina D</li> </ul>	Niveles plasmáticos bajos de: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Noradrenalina</li> <li>• Hormonas tiroideas</li> <li>• H. luteinizantes y folículo estimulantes</li> </ul>

Continuación tabla 5

Sistema alterado	Alteraciones tempranas durante la fase de choque espinal	Alteraciones tardías durante el estado crónico.
Endócrino y metabólico	Niveles plasmáticos elevados ( $\uparrow$ ) de: <ul style="list-style-type: none"> <li>Fósforo</li> <li>Prolactina</li> <li>Hormona antidiurética</li> <li>ACTH</li> <li>Hormonas hepáticas</li> </ul>	Desórdenes en el metabolismo de lípidos y carbohidratos: <ul style="list-style-type: none"> <li>Hiperinsulinemia</li> <li>Flujo hepático disminuido</li> <li><math>\downarrow</math> lipoproteínas de alta densidad</li> <li><math>\uparrow</math> lipoproteínas de baja densidad.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inmunodepresión.</li> <li><math>\downarrow</math> respuestas inmunes naturales y adaptativas</li> <li>Alteración de la función fagocítica de neutrófilos circulantes</li> </ul>	Niveles plasmáticos elevados de IL-6, IL-2 e ICAM-1

(Guízar-Sahagún *et al.*, 1998)

<sup>a</sup> Son atribuidas a un desbalance autónomo agudo debido a la predominancia de la actividad parasimpática y a la pérdida del tono simpático. <sup>b</sup> Reducen la calidad de vida del paciente, puesto que se presentan síntomas como molestias abdominales, distensión abdominal, constipación y dificultad para evacuar.

### 1.1.5.2. Alteraciones farmacocinéticas en estudios clínicos y en modelos experimentales.

Estudios farmacocinéticos en animales con LM han reportado que estos presentan una marcada alteración en los procesos fisiológicos (distribución, metabolismo y eliminación) y en la disposición de algunos fármacos. Esta alteración depende de las características de la lesión (intensidad, nivel y tiempo después de la lesión), las propiedades farmacológicas de los fármacos y la vía de administración (García-López, Martínez-Cruz, Guízar-Sahagún y Castañeda-Hernández, 2007).

Es de vital importancia resaltar las alteraciones fisiológicas causadas por una LM, ya que estas podrían tener un efecto sobre la farmacocinética de diversos fármacos empleados comúnmente en este tipo de pacientes. A continuación se

resumen las alteraciones en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación caracterizados hasta el momento.

**Absorción.** En pacientes lesionados, la vía de administración oral no es la más indicada, ya que se ha visto que estos pacientes presentan una disminución en la motilidad gastrointestinal, por lo que la absorción de los fármacos se ve significativamente disminuida cuando se administran oralmente. En pacientes con LM, los fármacos como la aspirina y el paracetamol administrados por vía oral tardan mayor tiempo en alcanzar sus concentraciones máximas comparados con un grupo no lesionado (Fuentes-Lara, Guízar-Sahagún y García-López, 1999). Este fenómeno se atribuye al lento vaciamiento gástrico y la baja motilidad gastrointestinal, puesto que los fármacos tardan más en alcanzar su principal sitio de absorción, y como consecuencia de la retardada absorción, el fármaco tarda mayor tiempo en producir el efecto terapéutico deseado. Algunos otros fármacos que comúnmente se prescriben a pacientes lesionados, son la teofilina (Segal y Brunnemann, 1989), el dantroleno (Gilman, Segal y Brunnemann, 1996), la carbamacepina (Reihani-Kermani, Ansari y Karamousian, 2006), la 4-aminopiridina (Hayes et al., 2004), la ciclosporina A (Ibarra et al., 1996) y el baclofen (Aisen, Dietz, Rossi, Cedarbaum y Kutt, 1992), fármacos que igualmente se ven afectados por el retardo en el vaciamiento gástrico y la motilidad GI disminuida.

**Distribución.** Debido a que los pacientes con LM comúnmente desarrollan hipoalbuminemia, estos presentan una distribución y una farmacocinética alterada. Esto se traduce en que los fármacos como el naproxeno (con 99% de unión a proteínas plasmáticas) incrementarán su distribución, mientras que aquellos sin unión a proteínas como la fenacetina (30%), gentamicina y amikacina (10-20%), tendrán un proceso de distribución normal (García-López et al., 2007). Por otra parte, también se ha observado un incremento significativo en el volumen de distribución de los fármacos como la amikacina, el cefotiam (Segal y Brunnemann, 1989), la ketamina

(Hijazi, Bodonian, Bolon, Salord y Boulieu, 2003) y el lorazepam (Segal, Brunneemann, Eltorai y Vulpe, 1991).

**Metabolismo.** Después de una LM, el flujo microvascular hepático se ve disminuido y existe una afección en la expresión genética de hepatocitos y en el metabolismo de las catecolaminas (Mestre, Alkon, Salazar y Ibarra, 2011). Por ello, fármacos de alta extracción hepática como la fenacetina, la metilprednisolona y la ciclospoina A presentan una mayor biodisponibilidad debido a la alteración en la depuración metabólica hepática (García-López et al., 2007; Ibarra et al., 1996; Segal et al., 1998). Asimismo, los fármacos cuya eliminación dependa del flujo sanguíneo hepático, presentarán mayores niveles en sangre y dichos fármacos, permanecerán más tiempo en el organismo debido a la eliminación disminuida (Tietze y Putcha, 1994). Comparados con otros parámetros farmacocinéticos, las alteraciones metabólicas que presentan los pacientes lesionados son mínimas, sin embargo, debe tenerse especial cuidado con las dosis y los intervalos de dosificación con el fin de optimizar los tratamientos (Mestre et al., 2011).

**Eliminación.** La disminución en la función renal en pacientes con LM, podría ocasionar una toxicidad ocasionada por los fármacos administrados. Se ha reportado que la población con LM sufre de una función renal disminuida, prolongando los tiempos de vida media de los fármacos y disminuyendo la depuración renal. Ejemplo de ello son la amikacina, el cefotiam, la doxicilina, la ketamina, el diclofenaco, la vancomicina y el lorazepam (Brunneemann y Segal, 1991; García-López y Salas, 1999; Hijazi et al., 2003; Lavezo y Davis, 1995; Segal y Brunneemann, 1989; Segal et al., 1991). Del mismo modo, la gentamicina presenta una disminución significativa en su excreción renal en un modelo experimental de LM, la cual se atribuyó a una alteración en el flujo sanguíneo renal durante el choque espinal, que consecuentemente genera una alteración en la FG (García-López et al., 2007).

Las alteraciones en el proceso farmacocinético de los fármacos en presencia de una LM plantea que dependiendo del impacto de la alteración, este tipo de pacientes pueden requerir de regímenes de dosificación diferentes a los ya establecidos.

### **1.1.5.3. Alteraciones hemodinámicas.**

Se ha reportado que la LM genera una disfunción en el SNA, que resulta en alteraciones metabólicas y sistémicas que pueden ser mortales (Bunten, Warner, Brunnemann y Segal, 1998), ocasionando la disfunción de órganos en diversos sistemas (Bauman y Spungen, 2000; Cruse, Keith, Bryant y Lewis, 1996; Guízar-Sahagún et al., 1998; Miranda y Hassouna, 2000; Teasell et al., 2000).

La LM también causa la hemorragia y la necrosis de la ME, principalmente en la sustancia gris (Guha y Tator, 1988; Taoka y Okajima, 1998) así como la pérdida de la microcirculación y la pérdida de la autorregulación (Tator y Fehlings, 1991). De la misma manera, esta patología causa una disminución en el gasto cardiaco e hipotensión, debido a la pérdida de la autorregulación de la ME y a una disfunción cardiaca (Guha y Tator, 1988; Tator y Fehlings, 1991).

Por otra parte, se ha visto que la LM causa una alteración en el flujo microvascular sanguíneo (FMVS) de diversos órganos (Seifert, Lob, Probst y Brendel, 1979), disminuyendo en diferentes magnitudes en el bazo, el músculo y el riñón, en el cual también se observa un incremento en la resistencia periférica vascular (RPV), sugiriendo que existe una autorregulación renal eficiente durante el choque espinal (Guízar-Sahagún et al., 2004). No obstante, en este estudio se midió únicamente el FMVS renal cortical, el cual, en contraste con el flujo sanguíneo medular, es autorregulado (Inscho, 2001; Pallone, Silldorff y Turner, 1998; Sladen y Landry, 2000).

De la misma manera, se observó que el tiempo transcurrido después de una LM influye significativamente en los cambios en el FMVS y en la RPV, presentándose

los cambios más importantes durante el primer día, correspondiente a la fase de choque espinal, la cual dura de 1 a 2 días después de ocurrida la lesión en ratas (Gale, Kerasidis y Wrathall, 1985). Aunque no existen estudios similares en humanos, si el FMVS sistémico en humanos es mayormente afectado durante la fase de choque espinal clínico, dichas alteraciones podrían durar varias semanas o incluso meses, el tiempo habitual para el choque espinal en pacientes lesionados (Atkinson y Atkinson, 1996).

Guízar y colaboradores (Guízar-Sahagún et al., 2004), sugieren que debido a que la presión sistémica decreció mínimamente durante sus experimentos, la caída en el FMVS observada en el hígado, el bazo y el riñón no se relacionan con la hipotensión sistémica, sino más bien, es el resultado del incremento en la RPV asociada a las respuestas vasculares órgano-específicas durante el choque espinal (Guízar-Sahagún et al., 2004).

Bajo condiciones normales, el FMVS depende mayormente de los factores locales. Por su parte, el control local autorregulatorio asume una constante perfusión tisular dentro de un intervalo específico de la presión arterial. Estos mecanismos regulatorios involucran principalmente la liberación de mediadores vasoactivos endoteliales y una retroalimentación autonómica (Bastien et al., 2000; Hildebrand et al., 2000), por lo que la LM podría provocar un desbalance entre los compuestos vasoregulatorios, dependiendo de los mecanismos de autorregulación sistémica e intrínseca. Sin embargo, Guízar y colaboradores (Guízar-Sahagún et al., 2004) sugieren que los cambios en el FMVS presentes están primordialmente influenciados por los factores locales, considerando también la posibilidad de que las paredes de los vasos sanguíneos desarrollan un aumento en la capacidad de respuesta vasoconstrictora y una disminución en la vasodilatadora (Teasell et al., 2000).

Por ello, el FMVS es considerado como la variable hemodinámica más importante en el mantenimiento de la perfusión tisular (Bastien et al., 2000). De

forma tal que las alteraciones metabólicas y sistémicas así como las farmacocinéticas después de una LM, podrían estar relacionadas a los cambios órgano-específicos en el FMVS, causando isquemia y/o hiperemia y un posible daño a los órganos (Guízar-Sahagún et al., 2004).

#### **1.1.6. Importancia y descripción de modelos experimentales de LM.**

El desarrollo de estudios de LM en humanos requiere de modelos animales estandarizados y reproducibles en los cuales un estímulo traumático cuantificable pueda ser correlacionado con la recuperación funcional y la morfología de la lesión medular. Las ratas como animales de experimentación parecen ser la mejor especie para estudios de LM, ya que son capaces de tolerar el tratamiento experimental, además de presentar las ventajas económicas y de disponibilidad (Taoka y Okajima, 1998).

Existen tres modelos de LM usados comúnmente en roedores:

- ☞ **Transección:** Involucra la apertura de la dura madre y el corte de la ME con algún instrumento filoso. Cuando se lleva a cabo de manera adecuada, resultan útiles para realizar demostraciones anatómicas o regeneración, ya que el experimentador controla el lugar exacto y la intensidad de la lesión.
- ☞ **Compresión:** La LM es inducida apretando la ME con un clip de aneurisma o colocando un objeto pesado sobre la ME expuesta. Esto involucra el cortar la dura madre, que podría ser un factor importante en la patología de la LM.
- ☞ **Contusión:** Esta técnica es ampliamente usada y ha sido modificada en algunos casos (Das, 1989; Tator y Fehlings, 1991). Su objetivo es inducir una lesión traumática en forma cuantitativa. En este modelo experimental, se expone la ME del animal al nivel deseado y se deja caer directamente sobre la ME un cilindro de peso conocido a una altura determinada. Con esta técnica, la fuerza del impacto puede ser determinada, y por tanto, la intensidad y grado

de la lesión puede ser cuantificado. Este método reduce la variabilidad y es más fácilmente adaptable.

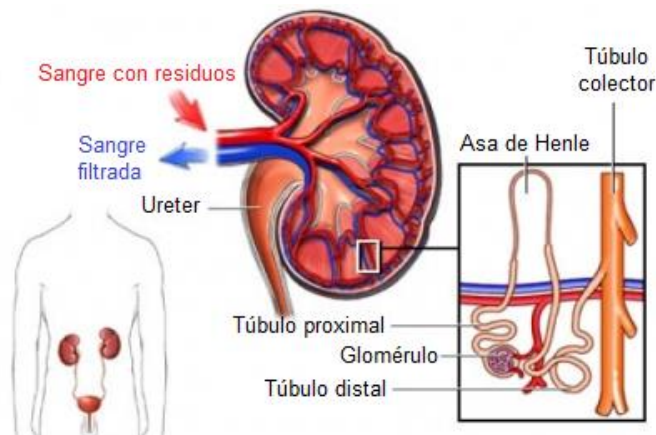
Los modelos más usados son el de contusión y el de compresión, ya que se asemejan a la LM producida en humanos (Hulsebosch, 2002; Rosenzweig y McDonald, 2004).

## 1.2. Eliminación renal.

La excreción renal es la vía más importante de eliminación de fármacos y metabolitos, siendo este un fenómeno que involucra uno o más de los siguientes tres procesos: filtración glomerular, secreción tubular activa y reabsorción pasiva (Gibaldi, 1991). Dicha eliminación se lleva a cabo gracias a la anatomía y fisiología de los riñones.

La *nefrona* es la unidad funcional del riñón. En el ser humano, cada riñón está formado de alrededor de 1 millón de nefronas, y cada una consta de 2 partes principales (Fig. 6):

- Un glomérulo (capilares glomerulares) a través del cual se filtra gran cantidad de sangre.
- Un largo túbulo donde el líquido filtrado se convierte en orina en su recorrido hasta la pelvis renal.

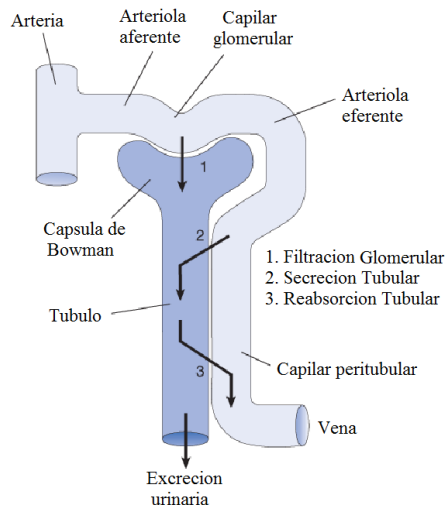


**Fig. 6. Anatomía del riñón.** La ampliación corresponde a la unidad funcional del riñón: la nefrona (Media, 2009).



La formación de la orina es el resultado de tres procesos: la filtración glomerular (FG), la reabsorción tubular (RT) y la secreción tubular (ST), los cuales están regulados de acuerdo a las necesidades del organismo (Fig 7) (Eaton y Pooler, 2013). Los primeros dos procesos, FG y ST actúan para remover los fármacos del cuerpo, mientras que la RT es un mecanismo de redistribución que actúa para conservar un fármaco en el organismo (Bonate, Reith y Weir, 1998). Matemáticamente se expresa como:

$$\text{Excreción urinaria} = \text{Filtración} - \text{Reabsorción} + \text{Secreción}$$



**Fig. 7. Procesos básicos en la excreción renal** (Eaton y Pooler, 2013).

La reabsorción se refiere a las sustancias que se encuentran en el túbulo y pasan a la sangre, y la secreción a las que desde la sangre pasan al interior de los túbulos renales. La primera juega un papel importante en la formación de orina, mientras que la segunda, juega un papel importante en la determinación de las cantidades de iones de  $K^+$  y de  $H^+$  y de algunas otras sustancias que se excretan por la orina.

### 1.2.1. Funciones del riñón.

El riñón tiene una función reguladora que proporciona el ambiente estable que todas las células necesitan para llevar a cabo sus diversas actividades. Todo ello lo hace filtrando el plasma sanguíneo y eliminando las sustancias de este filtrado de acuerdo a las necesidades del organismo, y por otra parte, depurando o “aclarando” las sustancias de desecho del filtrado glomerular excretándolas a la orina, en tanto devuelven a la sangre las sustancias que son necesarias (Eaton y Pooler, 2013; Guyton y Hall, 2006).

Sin embargo, no es esta su única función. Dentro de las capacidades del riñón se encuentran:

- *Excretar los productos de desecho del metabolismo y de las sustancias químicas extrañas:* Elimina los productos de desecho del metabolismo que ya no son necesarios para el organismo. Estos son: la urea (derivada del metabolismo de los aminoácidos), el ácido úrico (procedente de los ácidos nucleicos), la creatinina (de la creatinina muscular), los productos finales del metabolismo de la hemoglobina (como la bilirrubina) y los metabolitos de algunas hormonas.
- *Regular el equilibrio hídrico y electrolítico:* Para mantener la homeostasis, la excreción de agua y electrolitos debe equipararse al ingreso de los mismos. Si los ingresos superan la excreción, la cantidad de esa sustancia en el cuerpo aumentará, mientras que si la ingestión es menor que la excreción, su cantidad se reducirá.
- *Regular el volumen plasmático:* Conservando o eliminando agua en la orina. Un aumento en el volumen plasmático aumentará la presión arterial, mientras que un descenso en el mismo la disminuirá. Esto asegura que el espacio vascular se llene con el volumen suficiente para que la sangre pueda circular

normalmente. Esta función es el resultado del balance hídrico electrolítico descrito anteriormente.

- *Regular la presión arterial:* Mediante la excreción de sodio y agua (regulación a largo plazo) y mediante la secreción de factores o sustancias vasoactivas (regulación a corto plazo), como la renina, que dan lugar a la formación de productos vasoactivos (p. ej., la angiotensina II).
- *Regular el equilibrio ácido-base:* Mediante la excreción de ácidos y regulando las reservas de las sustancias amortiguadoras en los líquidos corporales. El riñón es el único medio para eliminar ciertos tipos de ácidos, como el ácido sulfúrico y el ácido fosfórico, que genera el metabolismo de las proteínas.
- *Regular la producción de eritrocitos:* Se encarga de secretar eritropoyetina, la cual estimula la producción de eritrocitos.
- *Regular la producción de vitamina D:* Produce la forma activa de la vitamina D (1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>) conocida como calcitrol, que es esencial para el depósito normal del calcio en el hueso y la reabsorción del calcio en el aparato digestivo.
- *Gluconeogénesis:* Sintetiza glucosa a partir de los aminoácidos y de otros precursores en situaciones de ayuno prolongado.

Por todo lo anterior, cualquier factor que afecte la capacidad del riñón para eliminar los fármacos puede producir cambios importantes en la farmacocinética de los mismos. Algunos de estos factores son: la unión a proteínas, la interacción de los fármacos en el sitio de depuración, el flujo sanguíneo renal y el pH urinario (Bonate et al., 1998).

### 1.2.2. Irrigación renal.

Puesto que los riñones eliminan desechos de la sangre y regulan su volumen y su composición iónica, no es sorprendente que estén altamente vascularizados. A pesar de que constituyen menos del 0.5% de la masa corporal total, reciben entre el 20 y el 25% del gasto cardiaco a través de las arterias renales. En los adultos, el flujo sanguíneo renal, esto es, el flujo de sangre a través de ambos riñones es de alrededor de 1200 mL/min, mientras que el flujo plasmático renal es regularmente de 600-800 mL/min, del cual aproximadamente el 20% (120 mL/min) se filtran a través del glomérulo (Gibaldi, 1991).

Dentro del riñón, la arteria renal cuenta con una serie de ramificaciones progresivas hasta formar los capilares glomerulares, donde se lleva a cabo el proceso de filtración, que se explicará a detalle más adelante. Así, el riñón cuenta con arterias segmentarias, interlobulares, arcuatas o arciformes, e interlobulillares, que dan paso a las arteriolas aferentes. Cada nefrona recibe una arteriola aferente, que se divide en una red capilar profusa en forma de ovillo: el glomérulo. Los capilares glomerulares luego se reúnen para formar la arteriola eferente, que transporta sangre fuera del glomérulo. Finalmente, las arteriolas eferentes se ramifican para formar los capilares peritubulares, que posteriormente se reúnen para formar las vénulas peritubulares y luego las interlobulillares. La sangre drena después por las venas arcuatas en las venas interlobulares para abandonar el riñón a través de la vena cava renal (Tortora y Derrickson, 2009).

Tanto los capilares glomerulares como los peritubulares, ayudan a regular la presión hidrostática en ambos grupos de capilares. La presión hidrostática alta en los capilares glomerulares (de unos 60 mmHg) da lugar a una filtración rápida, mientras que una presión hidrostática mucho menor en los capilares peritubulares (de unos 13 mmHg) permite una reabsorción rápida de líquido. Al ajustar la resistencia de las arteriolas aferente y eferente, los riñones pueden regular la presión hidrostática en

ambos capilares, cambiando el filtrado glomerular, la reabsorción tubular, o ambas en respuesta a las demandas homeostáticas del cuerpo (Guyton y Hall, 2006).

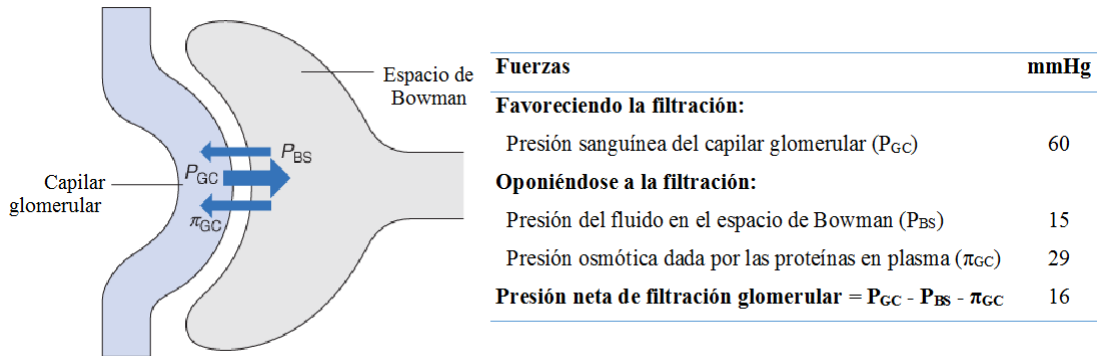
### 1.2.3. Filtración Glomerular (FG).

La filtración glomerular es un proceso pasivo por el cual los fármacos y otras sustancias endógenas son filtradas a través del glomérulo. Solamente pueden atravesar esta membrana las moléculas pequeñas (menores de 5kD); las macromoléculas, como la albúmina, las globulinas y otras proteínas plasmáticas, no pueden atravesarla, ni mucho menos el fármaco que se encuentre unido a ellas (Gibaldi, 1991).

Es en este proceso de filtración donde comienza la formación de la orina, el cual tiene lugar en los capilares glomerulares, que se encuentran rodeados por la cápsula de Bowman. Este proceso tiene una influencia directa del flujo sanguíneo renal, por lo que una reducción en el mismo, se refleja en una disminución de la cantidad de filtrado glomerular alterándose los procesos de secreción y reabsorción (Bonate et al., 1998).

El paso del fármaco del plasma al filtrado glomerular se efectúa a través de la pared del glomérulo por filtración debida a un gradiente de presión. Así, existen fuerzas que favorecen y otras que se oponen a la filtración de la sangre (Fig. 8). Las que favorecen la filtración o el movimiento de agua y de los solutos a través de la pared capilar glomerular son la presión hidrostática de la sangre dentro del capilar ( $P_{GC}$ ) y la presión oncótica del líquido dentro de la cápsula de Bowman, siendo la primera la principal fuerza que empuja al plasma para atravesar la barrera de filtración. Las fuerzas que se oponen son la presión osmótica del plasma dentro del capilar glomerular ( $\pi_{GC}$ ) y la presión hidrostática en la cápsula de Bowman ( $P_{BS}$ ). La presión neta de filtración ( $P_F$ ) representa la diferencia entre la presión hidrostática capilar (que favorece la filtración) y la presión oncótica capilar y la hidrostática del ultrafiltrado (que se opone a la filtración) y se puede expresar como:

$$P_F = P_{GC} - (\pi_{GC} + P_{BS})$$



**Fig. 8. Estructura de la pared del capilar glomerular y valores típicos de las presiones que determinan la filtración (Eaton y Pooler, 2013).**

#### 1.2.4. Secreción Tubular (ST).

Cuando la tasa de excreción de un fármaco excede a la de filtración, la ST debe estar involucrada en la eliminación de dicho fármaco. Dicho proceso sigue un mecanismo de transporte activo caracterizado como un proceso mediado por acarreador y se efectúa en el túbulo proximal (Masereeuw y Russel, 2001). Se trata de un proceso saturable, es decir, que existe un límite en el cual la cantidad de soluto supera la capacidad de las proteínas transportadoras y enzimas específicas implicadas en el proceso de transporte, existiendo, por tanto, mecanismos de competición por un mismo sistema de transporte activo (Gibaldi, 1991).

En sí, este proceso consiste en la transferencia de sustancias desde la sangre y las células tubulares hacia el líquido tubular. Las sustancias secretadas son iones de  $H^+$ ,  $K^+$ , y amonio ( $NH_4^+$ ), urea, creatinina y ciertos fármacos como la penicilina. Los principales objetivos durante este proceso son dos: la secreción de  $H^+$  para controlar el pH sanguíneo y la secreción de otras sustancias para eliminarlas del organismo. (Tortora y Derrickson, 2009).

### 1.2.5. Depuración renal.

La disminución aparente de un fármaco en el organismo se puede determinar mediante la *depuración* o *aclaramiento renal*, el cual puede definirse como el volumen hipotético de sangre (plasma o suero) que están limpiando los riñones de una sustancia por unidad de tiempo. Este parámetro proporciona un método para cuantificar la función excretora de los riñones, y se puede utilizar para calcular la velocidad con la que la sangre riega los riñones y para medir las funciones básicas del riñón (Guyton y Hall, 2006; Tortora y Derrickson, 2009).

Conocer la depuración de un fármaco es esencial para determinar la dosificación correcta. Si este es alto (p. ej. la penicilina), la dosificación también debe serlo, y el fármaco debe administrarse varias veces al día para mantener un nivel terapéutico adecuado en la sangre. Para calcular la depuración renal de una sustancia, se utiliza la siguiente ecuación:

$$Cl = \frac{U \times V}{P}$$

Donde U y P son las concentraciones de la sustancia en la orina y en el plasma, respectivamente (ambas expresadas en mg/mL), y V es la velocidad de flujo urinario en mL/min, por lo que las unidades de depuración renal están dadas en mL/min. Sin embargo, si una sustancia se filtra pero no se reabsorbe ni se secreta, su depuración será igual a la TFG (Tortora y Derrickson, 2009).

### 1.2.6. Marcadores de filtración glomerular.

Para medir la depuración renal y saber la capacidad de filtración de los riñones, se estima la tasa de filtración glomerular (TFG) a través de la depuración de algún marcador de filtración que sea excretado únicamente por filtración glomerular. Dicho valor es aceptado como el mejor índice para medir la función renal tanto en personas sanas como en pacientes enfermos, por lo que valores precisos son necesarios para la toma de decisiones óptima en la clínica (Stevens y Levey, 2009).

Dada la importancia de este parámetro, deben emplearse marcadores que cumplan con diversas características (Barba Evia, 2008; Bonate et al., 1998; Frennby y Sterner, 2002; Stevens y Levey, 2009; Traynor, Mactier, Geddes y Fox, 2006):

- Debe filtrarse libremente por el riñón a través del glomérulo (por FG).
- No eliminarse de manera extrarrenal.
- No reabsorberse ni secretarse dentro de la circulación peritubular.
- No unirse a proteínas.
- Debe ser fisiológicamente inerte, es decir, no alterar la función renal.
- Debe tener niveles circulantes estables, no alterados por otros cambios fisiológicos.

Debido a que cumple con los requisitos antes mencionados, la inulina es conocida como el estándar de oro para medir la función renal. Esta sustancia es un polímero de la fructosa que es filtrada libremente por el glomérulo sin ser absorbida ni secretada por los túbulos; no es sintetizada o degradada por el cuerpo y es fisiológicamente inerte. Sin embargo, el método del aclaramiento de inulina no se considera práctico para su uso en la clínica debido a que es difícil de medir, es altamente costoso y además, el procedimiento es invasivo y tardado (Frennby y Sterner, 2002; Stevens y Levey, 2009; Traynor et al., 2006).

Por otra parte, la creatinina es ampliamente utilizada debido a que no se requiere administrar, ya que es un subproducto del metabolismo del músculo esquelético. Sin embargo, existen muchos factores que limitan los niveles séricos de este marcador ya que causan incrementos en la depuración de creatinina (Barba Evia, 2008); entre estos se encuentran:

- Manipulación renal
- Generación de creatinina
- Variaciones diarias en la excreción urinaria de creatinina
- Metabolismo y eliminación extrarrenal
- Secreción tubular



- ☒ Error en la recolección de orina
- ☒ Influencias de la masa muscular
- ☒ Superficie corporal
- ☒ Ingesta de carne
- ☒ Raza, edad
- ☒ Interferencias analíticas en los métodos de laboratorio

Dadas las desventajas de los marcadores antes mencionados, se han propuesto diversas sustancias como marcadores de FG. La tabla 6 muestra algunas de ellas con sus respectivas ventajas y desventajas.

**Tabla 6. Ventajas y limitantes de los marcadores de filtración renal.**

Indicador	Ventajas	Desventajas
<b>INULINA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Estándar de oro</li> <li>*FG libre</li> <li>*No se absorbe ni se secreta</li> <li>*No tiene efectos colaterales</li> <li>*Tasa de excreción = Tasa de filtración<sup>a</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Costoso</li> <li>*Requiere administración IV</li> </ul>
<b>CREATININA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Es un marcador endógeno<sup>b</sup></li> <li>*Se utiliza en la clínica</li> <li>*Se encuentra en el plasma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*No es un método sensible<sup>c</sup></li> <li>*Sufre secreción tubular</li> <li>*Es variable entre individuos</li> <li>*Requiere recolección de orina</li> </ul>
<b><sup>51</sup>Cr-EDTA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Cumple con las características de un marcador ideal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*El manejo, almacenamiento y eliminación de desechos es complicado</li> <li>*Tiene un costo elevado</li> </ul>
<b>CISTATINA C</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Es una proteína endógena</li> <li>*Se filtra libremente por el glomérulo</li> <li>*No se secreta ni se reabsorbe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Sus niveles son dependientes de la masa muscular</li> <li>*Alteraciones en presencia de diversas enfermedades</li> </ul>

Continuación tabla 6.

Indicador	Ventajas	Desventajas
<b>IOTALAMATO</b>	*Económico	*Probable secreción tubular
	*Vida media larga	*Requiere de ensayos costosos.
	*Es filtrado a través del glomérulo	
	*No se reabsorbe ni se secreta	
<b>IOPAMIDOL</b>	*No es radioactivo	*No puede ser utilizado en
	*Es económico	pacientes con alergias al yodo
	*Permite detectar dosis bajas	
	*No requiere recolección de orina	

(Frennby y Sterner, 2002; Stevens y Levey, 2009; Traynor et al., 2006).

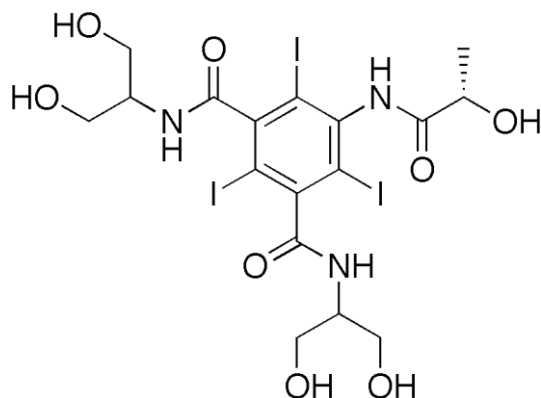
<sup>a</sup> Cantidad de inulina que llega a la cápsula de Bowman cada minuto = Cantidad de inulina que se elimina en la orina cada minuto. <sup>b</sup> No se requiere ningún tipo de administración. <sup>c</sup> El nivel de creatinina sérica no es sensible en la detección temprana de la función renal en pacientes con LM (MacDiarmid et al., 2000).

### 1.3. Iopamidol.

#### 1.3.1. Estructura y propiedades.

El iopamidol (fig. 9), (S)-N, N'-bis [2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]-2,4,6-triyodo-5-lactamido-isoftalamida, también conocido como Solucont<sup>®</sup> (Bonarum Pharma, S.A de C.V) es un medio de contraste radiológico no iónico, soluble en agua con un PM de 777.1 g/mol.

Es un monómero triyodado que presenta una excelente tolerancia local y general gracias a su baja osmolaridad, a la ausencia de disociación y a su marcada hirofilia. Este medicamento es únicamente para uso diagnóstico, utilizado como medio de contraste radiológico en angiografías, arteriografías, artrografías, angiocardigrafías y urografías, ha demostrado tener una tolerancia neurológica excelente y es de fácil administración (Bonaplast, 2012).



**Fig. 9. Estructura química del iopamidol:**

(S)-N,N'-bis [2-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]-2,4,6-triyodo-5-lactamido-isoftalamida.

### 1.3.2. Farmacocinética.

Al igual que los demás medios de contraste no iónicos, el iopamidol es eliminado principalmente por filtración glomerular, teniendo únicamente una excreción extrarenal de menos del 2% (Thomsen et al., 1991). Este medio de contraste se distribuye en los compartimentos vascular e intersticial del organismo y tiene una vida media de eliminación de aproximadamente 2 horas en sujetos con función renal normal. La eliminación renal tiene lugar casi exclusivamente por los glomérulos, sin presencia de metabolitos ni compuestos de deiodiación o biotransformación. A los 30 minutos tras su aplicación (en conejo) y 45 minutos (en perro), el 50% de iopamidol ha sido eliminado. Más del 80% de la dosis administrada es recuperada sin cambios en la orina dentro de las 4 h posteriores a su administración. Su unión a proteínas plasmáticas es tan baja que no tiene relevancia clínica (Bonaplast; Bourin, Jolliet y Ballereau, 1997; Kawada, 1985).

### 1.3.3. Ventajas.

Los medios de contraste iónicos monómeros convencionales poseen una elevada presión osmótica y son altamente hipertónicos en relación con la sangre y a las concentraciones que se utilizan habitualmente. Debido a esto, presentan efectos secundarios como: reducción de la presión arterial, vasodilatación, dolor y bradicardia. Sin embargo, los medios de contraste no iónicos, como el iopamidol,

muestran una presión osmótica muy inferior a concentraciones comparables de yodo, reduciendo de esta manera los efectos adversos y las reacciones adversas de forma significativa (Tabla 7) (Bourin et al., 1997).

**Tabla 7. Propiedades físicas de los medios de contraste.**

Medio de contraste	Características	Concentración de Iodo	Osmolaridad (mOsm/kg H <sub>2</sub> O)	Peso molecular (g/mol)	Viscosidad (mPa/s) <sup>a</sup>
<b>Diatrizoato de sodio</b>	Iónico	300 mg I <sub>2</sub> /mL	1 500	614	2.5
<b>Iotalamato</b>	Iónico	300 mg I <sub>2</sub> /mL	1 500	643	5.2
<b>Iohexol</b>	No iónico	300 mg I <sub>2</sub> /mL	690	821	4.5
<b>Iopamidol</b>	No ónico	300 mg I <sub>2</sub> /mL	616	777	4.8

<sup>a</sup> A una temperatura de 37 °C

(Modificado de Bourin et al, 1997)

Los agentes de radiocontraste como el iopamidol, ofrecen las ventajas de los radioisótopos sin la preocupación de las sustancias radioactivas, esto es, se correlacionan muy estrechamente con la depuración de inulina, además de que se dan en una sola dosis y la tasa de filtración glomerular (TFG) puede calcularse mediante su tasa de desaparición del plasma, obviando la necesidad de pruebas en orina, y a la vez omitiendo el uso de materiales radioactivos. Algunos medios de contraste no iónicos han sido presentados como agentes de elección para la determinación de la función renal debido a su uso relativamente rápido y por arrojar resultados comparables con la depuración de la inulina (Gaspari et al., 1995; Traynor et al., 2006). Asimismo, el uso de dichos agentes para la estimación de la TFG, ha ido incrementando su aceptación, ya que evita problemas como la administración de materiales radioactivos al paciente, así como la necesidad de tomar múltiples muestras de sangre u orina, dando resultados similares a los obtenidos con creatinina, con radioisótopos, e incluso con inulina (Brown y O'Reilly, 1991; Rocco, Buckalew, Moore y Shihabi, 1996).

Finalmente, y a diferencia de otros marcadores, el iopamidol presenta una nula unión a proteínas plasmáticas, es filtrado a través del glomérulo y no sufre los procesos de reabsorción ni secreción tubular, lo que lo hace un marcador ideal para estimar la TFG (Frennby y Sterner, 2002; Stevens y Levey, 2009).

#### 1.4. Ácido para-amino hipúrico.

##### 1.4.1. Estructura y propiedades.

El ácido *p*-amino hipúrico (PAH) (Fig. 10), N-(4-aminobenzoil) glicina, es un pequeño anión orgánico, soluble en agua que normalmente no se encuentra en el organismo, pero es ampliamente utilizado en estudios experimentales. Su fórmula empírica es  $C_9H_9N_2O_3$  y tiene un peso molecular de 194.2 g/mol.

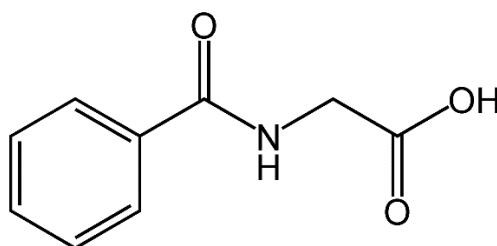


Fig. 10. Estructura química del PAH: N-(4-aminobenzoil) glicina.

##### 1.4.2. Farmacocinética y sus ventajas.

El PAH es uno de los aniones orgánicos más ampliamente estudiados debido a su alta tasa de excreción. Es libremente filtrado y también ávidamente secretado por el epitelio del túbulo proximal. Aproximadamente el 92% de la cantidad administrada de PAH es extraída del plasma sanguíneo en un solo paso por los riñones. Su tasa de secreción es saturable, por lo que a una dosis alta (100 mg/kg), la capacidad máxima de transporte del sistema secretor puede ser calculada. Este parámetro ha sido utilizado como medida de la función tubular (Haberle, Ruhland, Lausser, Moore y Neiss, 1978; Masereeuw y Russel, 2001).

## 2. JUSTIFICACIÓN.

La LM produce una serie de alteraciones en los sistemas cardiovascular, gastrointestinal, renal, endócrino, metabólico e inmune, dependiendo principalmente del nivel, del tiempo y de la intensidad de la lesión (Seifert et al., 1979; Buntzen et al., 1998; Cruse et al., 1996; Guízar-Sahagún et al., 1998; Bauman y Spungen, 2000; Guízar-Sahagún et al., 2004). Se conoce que algunos fármacos sufren un cambio en su proceso de eliminación en presencia de lesión medular, no obstante, los mecanismos involucrados no han sido estudiados a profundidad. Asimismo, se ha observado que existen complicaciones causadas por la disminución de la eficacia, reacciones adversas o fallas terapéuticas de los fármacos que ponen en peligro la vida de los pacientes lesionados (Segal y Brunnemann, 1989; Ibarra et al., 1996; García-López et al., 2007; Mestre et al., 2011; Young y Ensom, 2011). Sabiendo que los cambios hemodinámicos más drásticos ocurren durante el choque espinal y en lesiones altas, resulta atractivo evaluar la función renal a distintos niveles y tiempos después de ocurrida la lesión.

Teniendo en cuenta que la supervivencia, el potencial de rehabilitación y la calidad de vida de los individuos que han sufrido este tipo de lesión depende del uso eficaz de medicamentos seguros, resulta necesario, entre otras cosas, el monitoreo constante de la función renal para detectar problemas tempranos, prevenir la nefrotoxicidad secundaria debido a la administración frecuente de aminoglucósidos y para el ajuste apropiado de la dosis de los medicamentos excretados por vía renal con el fin de evitar fallas terapéuticas. Hasta el momento, existen diversos métodos para su evaluación, sin embargo, todos presentan desventajas al momento de ser utilizados en pacientes con LM (MacDiarmid et al., 2000; Frennby y Sterner, 2002; Traynor et al., 2006; Stevens y Levey, 2009).

Para lograr un monitoreo exitoso de la función renal en una población con lesión medular, se requiere contar con marcadores óptimos, así como con métodos precisos y prácticos que permitan determinar tanto la TFG como la ST en esta población de pacientes; por lo que se propone el uso de iopamidol y del PAH como marcadores de FG y de ST, respectivamente, esto gracias a sus múltiples ventajas que ayudarán a realizar una buena determinación de la función renal a nivel del glomérulo y de los túbulos renales, logrando identificar qué tanto se están alterando los procesos de FG y ST cuando se encuentra presente una LM (Rodríguez-Romero et al., 2015).

### 3. HIPÓTESIS.

La Lesión Medular producirá una alteración en el proceso de eliminación renal en función del tiempo y del nivel de la lesión.

### 4. OBJETIVOS.

#### 4.1. Objetivo general.

Evaluar el proceso de eliminación renal en ratas con Lesión Traumática de Médula Espinal mediante la farmacocinética de iopamidol y del ácido para-amino hipúrico.

#### 4.2. Objetivos particulares.

- ✓ Implementar la metodología para producir la LM a nivel torácico 1 (T1) y torácico 8 (T8) en la rata empleando el método de contusión.
- ✓ Montar y validar el método analítico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar el iopamidol y el PAH en plasma de rata, con base en la Norma Oficial Mexicana NOM – 177 – SSA1 – 2013.
- ✓ Evaluar el cambio en la filtración glomerular y en la secreción tubular en las ratas lesionadas en T1 con respecto a las no lesionadas.
- ✓ Evaluar el cambio en la FG y en la ST en las ratas lesionadas en T8 con respecto a las no lesionadas y a las lesionadas en T1.
- ✓ Evaluar los cambios en la FG y en la ST en las ratas lesionadas en T8 en función al tiempo (24 h vs 14 días post-lesión) con respecto a las no lesionadas.



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente estudio constó de tres etapas, las cuales se resumen en el siguiente diagrama de flujo (Fig. 11). La primera etapa consistió en diseñar y validar el método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) que permitiera cuantificar simultáneamente el iopamidol y el PAH en plasma de ratas. En la segunda etapa, el método validado se implementó en un estudio farmacocinético para estimar la depuración de ambos fármacos y evaluarlos como marcadores de Filtración Glomerular y Secreción Tubular. Finalmente, la tercera etapa (descrita más a detalle en la Fig. 12), fue la evaluación del efecto del nivel y del tiempo de la lesión medular sobre la farmacocinética de ambos fármacos para determinar la función renal.

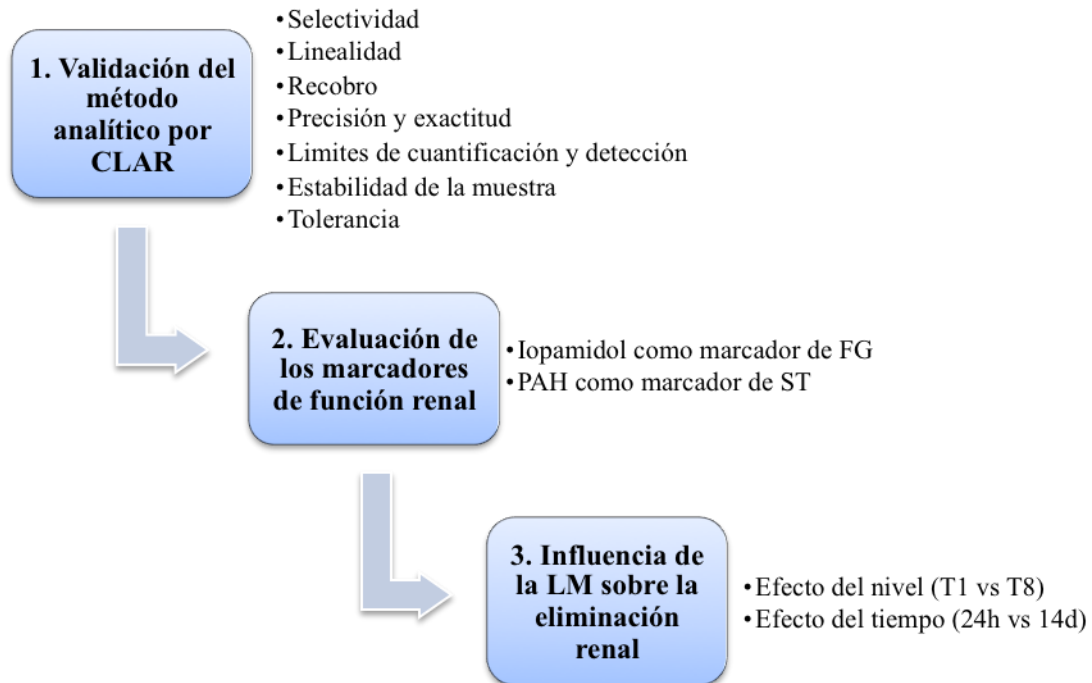


Fig. 11. Diagrama de flujo de las etapas del estudio.

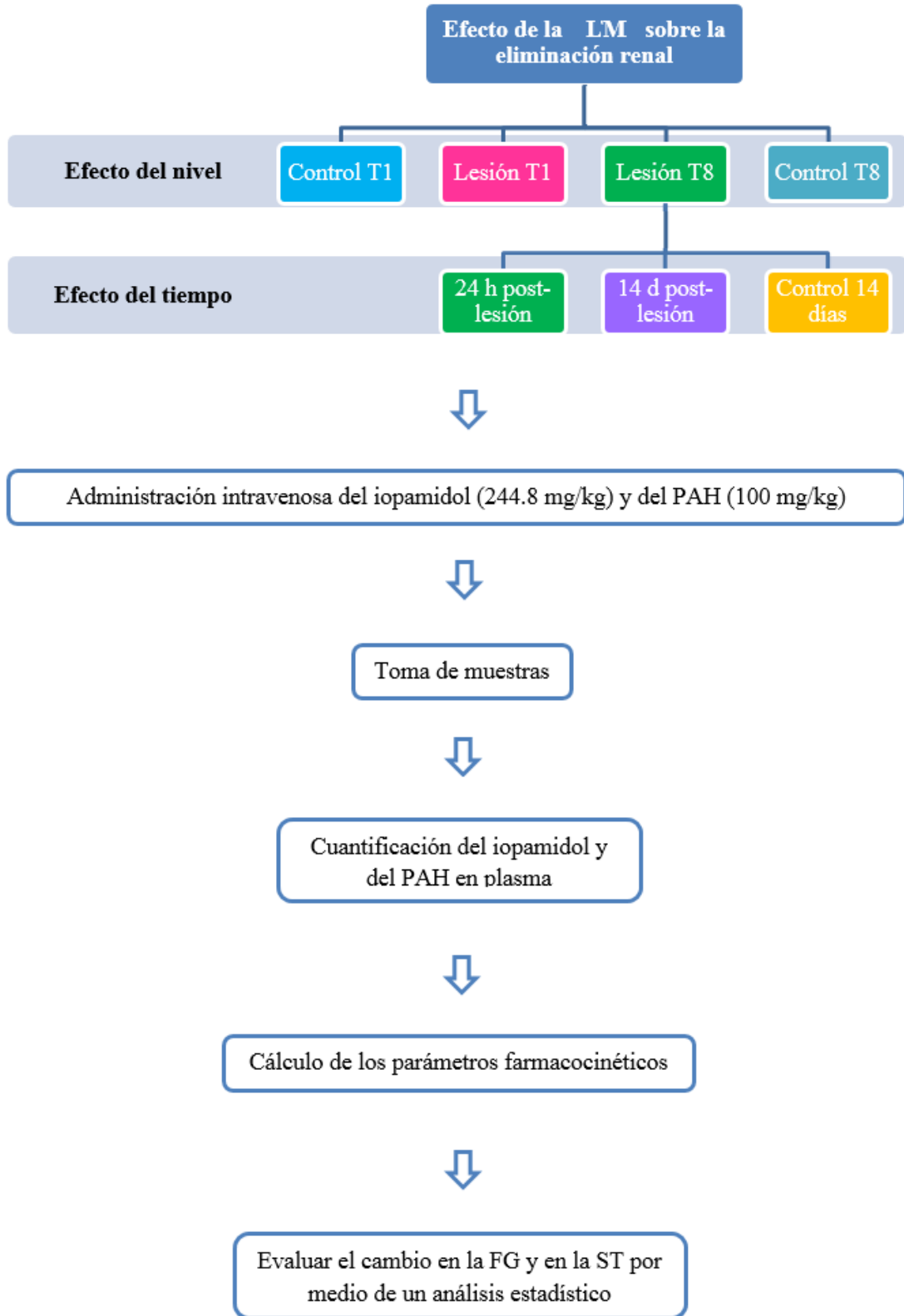


Fig. 12. Metodología de la etapa 3.

## **5.1. Cuantificación simultánea de iopamidol y PAH mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución.**

### **5.1.1. Equipo y condiciones cromatográficas.**

El sistema de cromatografía que se utilizó consistió de una bomba Waters modelo 510 y un inyector con loop de 20  $\mu$ L. La separación de los fármacos se llevó a cabo empleando como fase estacionaria una columna Symmetry C<sub>18</sub> de fase reversa de 150 mm de longitud por 4.6 mm de diámetro interno (d.i.) y 5  $\mu$ m de tamaño de partícula acoplada a una precolumna Zorbax SB-C<sub>18</sub> (5 m, 12.5 mm x 4.6 mm d.i.) y como fase móvil una solución 0.1 M de ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH):Acetonitrilo (90:10, v/v) con un pH de 3 a 4. La determinación se llevó a cabo a una longitud de onda de 270 nm por medio de un detector ultravioleta (UV) Waters 486 a una velocidad de flujo constante de 0.3 mL/min en un cromatógrafo Waters. Las señales se registraron por medio de un integrador Beckman modelo 427 a una velocidad de 0.25 cm/min, presentándose un tiempo de corrida total de 14 min.

### **5.1.2. Soluciones para el análisis por CLAR.**

#### **5.1.2.1.Preparación de la Fase Móvil.**

1. Se colocaron 5.7 mL de CH<sub>3</sub>COOH en un matraz de 1 000 mL.
2. Se aforó con agua grado HPLC, dando como resultado una solución 0.1M de CH<sub>3</sub>COOH.
3. Con ayuda de una probeta, se midieron 225 mL de la solución anterior y se adicionaron 25 mL de acetonitrilo, obteniendo así la fase móvil.
4. La solución preparada (fase móvil) se filtró al vacío a través de un filtro con un tamaño de poro de 45  $\mu$ m.
5. Dicha solución se colocó en un contenedor y se sonicó durante 5 minutos.
6. Finalmente, la fase se colocó en el equipo cromatográfico transfiriendo el filtro hacia el nuevo contenedor.

#### 5.1.2.2.Preparación del Estándar Interno.

Para obtener una solución concentrada de PABA (EI) de 100 µg/mL, se realizó lo siguiente:

1. En una balanza analítica, se pesaron 10 mg de PABA (Sigma-Aldrich).
2. La cantidad pesada se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con agua grado HPLC.
3. Se sonicó durante 5 min.

#### 5.1.2.3.Preparación del Extrayente.

Se utilizó una solución de ácido tricloroacético (CCl<sub>3</sub>COOH) al 2.5% (p/v) como extrayente:

1. Se pesaron 10 g de CCl<sub>3</sub>COOH.
2. Se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL.
3. Se aforó con agua grado HPLC, obteniendo una solución stock al 10%
4. Con ayuda de una probeta, se tomaron 25 mL de la solución anterior y se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL.
5. Se aforó con agua grado HPLC para obtener el CCl<sub>3</sub>COOH al 2.5% (p/v).

#### 5.1.2.4.Preparación de soluciones estándar.

##### 5.1.2.4.1. Iopamidol

1. En un matraz volumétrico de 25 mL se colocó 1 mL de iopamidol (300 mg I<sub>2</sub>, Solucont 300<sup>®</sup>) y se aforó con agua grado HPLC. Una vez disuelto, se adicionaron 5 mL más de agua para obtener una solución madre de 10 mg I<sub>2</sub>/mL.
2. En un matraz volumétrico de 25 mL, se colocaron 2.5 mL de la solución madre y se aforó con agua grado HPLC, para obtener una solución de 1 000 µg I<sub>2</sub>/mL.
3. En un matraz volumétrico de 25 mL, se colocaron 0.5 mL de la solución madre y se aforó con agua grado HPLC, para obtener una solución de 200 µg I<sub>2</sub>/mL.

**5.1.2.4.2. PAH**

1. Se pasaron 50 mg de PAH (Sigma-Aldrich)
2. Se transfirieron a un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua grado HPLC para obtener una solución madre de 2 000 µg/mL.
3. En un matraz volumétrico de 25 mL se colocaron 12.5 mL de la solución madre y se aforó con agua grado HPLC, para obtener una solución de 1 000 µg/mL.
4. En un matraz volumétrico de 25 mL se colocaron 2.5 mL de la solución madre y se aforó con agua grado HPLC, para obtener una solución de 200 µg/mL.
5. Se tomaron 1.25 mL de la solución preparada en el paso 3 y se colocaron en un matraz de 25 mL, obteniendo una concentración de 50 µg/mL.

Todas las soluciones fueron almacenadas en frascos color ámbar para evitar su contacto con la luz.

**5.1.3. Extracción de iopamidol y del PAH del plasma de rata.**

Para la extracción de los analitos de interés (iopamidol y PAH) de las muestras de plasma obtenidas del estudio farmacocinético (explicado a detalle más adelante), se empleó una extracción líquido – líquido con  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  al 2.5% (850 µL) en presencia de 50 µL de PABA (100 µg/mL), utilizado como estándar interno. La mezcla fue agitada en el vórtex durante 5 min y posteriormente se centrifugó durante 5 min a 9 000 rpm.

**5.1.4. Muestras blanco para la validación.**

Para el análisis de las muestras blanco se utilizaron tubos cónicos de 1 500 µL de capacidad a los cuales se les adicionaron 100 µL de plasma, 100 µL de PABA como EI a una concentración de 100 µg/mL y la cantidad necesaria de ácido tricloroacético para llevarlo a un volumen total de 1 000 µL. Finalmente, se agitaron en un vórtex durante 5 min y se centrifugaron a 9 000 rpm durante 5 min para su inyección en el equipo de cromatografía.

### **5.1.5. Muestras de tratamientos.**

De igual forma, para el análisis de las muestras de las ratas lesionadas se utilizaron tubos cónicos de 1 500µL de capacidad a los cuales se adicionaron 100 µL de la muestra del plasma colectado durante el tratamiento experimental (punto 5.4.2), 50 µL del estándar interno (concentración de 100 µg/mL) y 850 µL de ácido tricloroacético para llevarlo a un volumen total de 1 000 µL. Se agitaron en un vortex durante 5 min, se centrifugaron a 9 000 rpm durante 5 min y se tomaron 100 µL del sobrenadante para su inyección en el equipo de cromatografía.

## **5.2. Validación del método analítico.**

La validación del método analítico se realizó con base en lo especificado en la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013.

### **5.2.1. Selectividad.**

La selectividad demuestra la capacidad del método analítico para cuantificar exacta y específicamente el compuesto de interés, en presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en la muestra (NOM-177-SSA1-2013).

Esta se determinó analizando muestras de plasma de ratas no tratadas con ninguno de los fármacos de interés (iopamidol y PAH) para detectar cualquier tipo de interferencia de parte de la matriz biológica. Asimismo, se analizó la fase móvil (0.1 M CH<sub>3</sub>COOH:ACN 90:10, v/v), el extrayente (ácido tricloroacético al 2.5%), los fármacos en plasma y los fármacos con el EI (PABA a una concentración de 100 µg/mL) con el fin de identificar los tiempos de retención de las sustancias de interés. Finalmente, se analizó la posible interferencia con fármacos concomitantes.

En ninguno de los casos anteriores debía existir interferencia alguna entre los tiempos de retención de iopamidol, el PAH y el PABA al ser comparados con sus respectivos blancos.

### 5.2.2. Curvas de calibración.

El intervalo de las curvas de calibración se establece en función a las concentraciones esperadas de los analitos a cuantificar durante el análisis de las muestras. Por medio de esta se encuentra un modelo matemático que describe la relación matemática entre la concentración y la respuesta obtenida. Representa la capacidad del método para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

Durante un mismo día se evaluaron por sextuplicado muestras de plasma de rata que contenían los fármacos de interés a seis distintos niveles de concentración. Para ello, se utilizaron tubos cónicos de 1 500µL de capacidad a los cuales se adicionaron 100 µL de plasma de rata (matriz biológica), 100 µL de PABA como estándar Interno (a una concentración de 100 µg/mL) y el volumen correspondiente de las soluciones preparadas en el punto 5.2.2.4 para obtener las concentraciones de los puntos que conformaron las curvas de calibración: 15, 30, 60, 90 y 120 µg/mL para el iopamidol y 2.5, 5, 15, 45, 80 y 120 µg/mL para el PAH (tabla 8).

**Tabla 8. Curva de calibración para la determinación simultánea de iopamidol y PAH.**

$C_{\text{Iopamidol}}$ (µg/mL)	Solución estándar* (µg/mL)	Vol (µL)	$C_{\text{PAH}}$ (µg/mL)	Solución estándar* (µg/mL)	Vol (µL)	PABA (100µg/mL) (µL)	S/ M# (µL )	$\text{CCl}_3\text{COOH}$ 2.5% (µL)
----	----	----	<b>2.5</b>	50	50	50	100	800
<b>15</b>	200	75	<b>5</b>	50	100	50	100	675
<b>30</b>	200	150	<b>15</b>	200	75	50	100	625
<b>60</b>	1000	60	<b>45</b>	1000	45	50	100	745
<b>90</b>	1000	90	<b>80</b>	1000	80	50	100	680
<b>120</b>	1000	120	<b>120</b>	1000	120	50	100	610

\*Ver preparación de soluciones en el punto 5.2.2.4.

#Para el caso de la linealidad en sistema, se utilizó  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , mientras que para el método, plasma.

### 5.2.3. Recobro.

Se evaluó por triplicado la curva de calibración (tabla 8) para cada compuesto en la matriz biológica (plasma de rata) y se comparó con las mismas concentraciones en solución, obteniendo el por ciento de recobro. Este no tiene que ser necesariamente del 100%, pero debe ser reproducible en cada nivel de concentración dentro del intervalo evaluado (NOM-177-SSA1-2013).

Para las muestras en solución que se prepararon para la validación del sistema, se omitió la adición de los 100  $\mu\text{L}$  de plasma y se sustituyó por 100  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético con el fin de mantener el volumen total de 1 000  $\mu\text{L}$ . Posteriormente, se agitaron en un vortex durante 5 min y finalmente se centrifugaron a 9 000 rpm durante 5 min. Transcurrido este tiempo se tomaron 100  $\mu\text{L}$  del sobrenadante para ser inyectados en el cromatógrafo. A continuación, se determinó la relación de alturas obtenidas entre cada uno de los compuestos de interés (iopamidol y PAH) con respecto al PABA, utilizado como EI.

Para calcular el porcentaje de recobro tanto para el iopamidol como para el PAH, se compararon las pendientes obtenidas en las curvas en solución con las obtenidas en plasma.

### 5.2.4. Precisión y exactitud.

La precisión se refiere a la dispersión de las medidas experimentales determinadas repetidamente, mientras que la exactitud, es qué tanto se acerca el valor obtenido experimentalmente al valor de referencia. La evaluación de la precisión y la exactitud se hace mediante la repetibilidad (intradía) y la reproducibilidad (interdía).

Para llevar a cabo su evaluación, se prepararon los llamados “puntos control”, los cuales hacen referencia a tres niveles de concentración dentro de la curva de calibración: alta, media y baja. Estos se establecieron como sigue: 17, 50 y 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para el iopamidol y 3.75, 22 y 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para el PAH (tabla 9). Dichas



soluciones se llevaron a un volumen total de 1 000  $\mu\text{L}$  con  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , el cual permitió la extracción de los fármacos por medio de la precipitación de proteínas.

**Tabla 9. Preparación de los puntos control.**

$C_{\text{Iopamidol}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Solución estándar* ( $\mu\text{g/mL}$ )	Vol ( $\mu\text{L}$ )	$C_{\text{PAH}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Solución estándar* ( $\mu\text{g/mL}$ )	Vol ( $\mu\text{L}$ )	PABA (100 $\mu\text{g/mL}$ ) ( $\mu\text{L}$ )	$M^*$ ( $\mu\text{L}$ )	$\text{CCl}_3\text{COOH}$ 2.5% ( $\mu\text{L}$ )
<b>17</b>	----	----	<b>3.75</b>	50	50	50	100	800
<b>50</b>	200	75	<b>22</b>	50	100	50	100	675
<b>100</b>	200	150	<b>90</b>	200	75	50	100	625

\*Se utilizó plasma de rata

#### 5.2.4.1. Repetibilidad (intradía).

En un mismo día se evaluaron por quintuplicado los puntos control (tabla 9) utilizando plasma de rata como matriz biológica. La relación de alturas obtenidas entre cada uno de los compuestos de interés (iopamidol y PAH) y el EI (PABA) para todas las muestras, fue interpolada en la curva de calibración obtenida el mismo día del análisis con el fin de determinar la cantidad cuantificada así como el porcentaje de recobro.

Asimismo, se calculó el promedio, el coeficiente de variación (CV), el cual debió ser menor o igual al 15 % excepto para la concentración mínima, que podía ser del 20% y el por ciento de recobro, que de acuerdo a lo establecido en la NOM-177-SSA1-2013, debía estar en un intervalo de 85 – 115 %.

#### 5.2.4.2. Reproducibilidad (interdía).

Se evaluaron por duplicado durante tres días consecutivos los puntos control (tabla 9) en la matriz biológica (plasma de rata). Se interpolaron todas las relaciones de alturas obtenidas para cada nivel de concentración en la curva de calibración respectiva para cada día del análisis con el fin de determinar la cantidad cuantificada.

Al igual que para la evaluación de la precisión en términos de repetibilidad, se calculó el promedio, el CV y el porcentaje de recobro, teniendo presente lo establecido en la NOM-177-SSA1-2013.

#### **5.2.5. Límite de cuantificación.**

Es la concentración más baja del compuesto que puede cuantificarse cumpliendo los criterios de exactitud y precisión establecidos.

Se analizó por quintuplicado y durante el mismo día, la concentración más baja de ambas curvas de calibración: 15  $\mu\text{g/mL}$  para el caso de iopamidol y 2.5  $\mu\text{g/mL}$  para el del PAH. De acuerdo a lo establecido por la regulación mexicana, las determinaciones no se deberían alejar más del 20% del valor nominal ( $\text{CV} < 20\%$ ) (NOM-177-SSA1-2013).

#### **5.2.6. Límite de detección.**

Se refiere a la concentración mínima del compuesto que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada por el método analítico.

Se obtuvo analizando por triplicado 4 concentraciones menores a los establecidos como límites de cuantificación (12.5, 10, 7.5 y 5  $\mu\text{g/mL}$  para el iopamidol y 2, 1.5, 1 y 0.5  $\mu\text{g/mL}$  para el PAH) con el fin de evaluar si la respuesta en los cromatogramas era distinguible del ruido del sistema.

#### **5.2.7. Estabilidad.**

Se evalúa con el fin de determinar las condiciones de temperatura y tiempo, entre otras, en las que los compuestos de interés (iopamidol y PAH) permanecen estables en la matriz biológica durante su manejo, almacenamiento y procesamiento.

De acuerdo a la normatividad consultada, las muestras se considerarán estables si los resultados cumplen con los parámetros de precisión y exactitud previamente establecidos (NOM-177-SSA1-2013).

#### **5.2.7.1. Ciclos de congelación/descongelación (manejo).**

Se evaluaron los puntos control (tabla 9) después de haber sido sometidos a 3 ciclos de congelación/descongelación comparando las concentraciones de iopamidol y del PAH después de dicho procedimiento con sus respectivas concentraciones nominales.

#### **5.2.7.2. Estabilidad a largo plazo (almacenamiento).**

Con el fin de determinar el periodo en el cual podrían estar almacenadas las muestras antes de su análisis, se prepararon los puntos control (tabla 9) conteniendo únicamente el iopamidol y el PAH. Dichas muestras se almacenaron durante 7, 15, 30, 60 y 90 días a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  antes de su análisis por CLAR.

#### **5.2.7.3. Estabilidad a corto plazo (procesamiento).**

Para evaluar la estabilidad a corto plazo (muestra procesada), se procesaron los puntos control (tabla 9) y se almacenaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24, 48 y 72 h. Después de dicho periodo de almacenamiento, las muestras fueron analizadas y las concentraciones obtenidas fueron comparadas con sus respectivos valores nominales.

#### **5.2.8. Tolerancia.**

La tolerancia del método analítico se evaluó haciendo pequeñas modificaciones al analizar las muestras. Dichas modificaciones debían cumplir con los criterios de precisión y exactitud previamente indicados. En este caso, se evaluó el cambio en la longitud de onda (de 270 a 250 nm), y con el fin de optimizar el tiempo de corrida, se aumentó la velocidad de flujo de la bomba de 0.3 mL/min a 0.6 mL/min.

### 5.3. Estudio farmacocinético.

#### 5.3.1. Animales de experimentación.

Retomando el diagrama de la figura 11, los animales se emplearon en las últimas dos etapas del estudio. Para la etapa 2, se utilizaron 18 ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley con un peso corporal de 250 g alimentadas con una dieta normal, las cuales se dividieron en tres grupos experimentales (tabla 10). Esta etapa consistió únicamente en evaluar la cinética de los fármacos a emplear, por lo que no se llevó a cabo ninguna cirugía, sino que se procedió directamente a hacer la canulación (punto 5.3.6) para la administración de los fármacos de acuerdo a lo mostrado en la tabla 10, seguido por su respectiva toma de muestras.

**Tabla 10. Diseño experimental etapa 2.**

Grupo	n	Tratamiento
<b>1</b>	6	120 mg I <sub>2</sub> /kg
<b>2</b>	6	120 mg I <sub>2</sub> /kg + 100 mg/kg PAH
<b>3</b>	6	50 mg/kg Probenecid + 120 mg I <sub>2</sub> /kg

Para la etapa 3 del estudio, se utilizaron un total de 36 ratas hembra de la misma cepa (Sprague-Dawley) con un peso corporal entre 250 y 280 g alimentadas con una dieta normal. Estas se dividieron en seis grupos experimentales tal como se muestra en la tabla 11. Los estudios farmacocinéticos se llevaron a cabo 24 h o 14 días después de someter a las ratas a la cirugía correspondiente.

**Tabla 11. Diseño experimental etapa 3.**

Grupo	n	Características de la cirugía	Tiempo post-lesión	Tratamiento
<b>A</b>	6	Control T1	24 h	
<b>B</b>	6	LM Aguda T1	24 h	120 mg I <sub>2</sub> /kg
<b>C</b>	6	Control T8	24 h	+
<b>D</b>	6	LM Aguda T8	24 h	100 mg/kg PAH
<b>E</b>	6	Control Sub-crónica T8	14 d	
<b>F</b>	6	LM Sub-crónica T8	14 d	

### **5.3.2. Anestesia.**

Con el propósito de anestésiar por completo y durante el tiempo suficiente para realizar las cirugías, se administró por vía intramuscular 0.5 mL de una mezcla de clorhidrato de xilacina (20 mg/mL) y clorhidrato de ketamina (100 mg/mL).

Para el proceso de canulación de la arteria y la vena femoral, las ratas fueron anestesiadas con éter etílico inhalado a fin de obtener las muestras de sangre (a través de la arteria) y llevar a cabo la administración IV del fármaco.

### **5.3.3. Cirugía control.**

Una vez anestesiada la rata, se afeitó alrededor de la zona de interés localizando la vértebra T1 o T8 (de acuerdo al diseño experimental). Posteriormente, bajo condiciones asépticas, se hizo una incisión con bisturí seguida de la disección de los músculos presentes y hasta llegar al hueso. Todo el procedimiento se realizó con suma precaución para evitar cualquier tipo de daño accidental. Finalmente, se suturó a tres niveles: músculo, periostio y piel.

### **5.3.4. Lesión Medular a nivel T1 y T8.**

Para lesionar a los animales de experimentación, primeramente se llevó a cabo una laminectomía (exposición de la médula espinal) al nivel deseado (T1 o T8), la cual consistió en extirpar la apófisis espinosa correspondiente con ayuda de la gubia para poder extirpar la lámina utilizando unas pinzas finas AA, de tal manera que la médula quedara completamente expuesta. Posteriormente, se provocó la lesión por el método de contusión colocando cada animal en un equipo estereotáxico y siguiendo la técnica de Allen modificada para ratas (Guízar-Sahagún et al., 1994), la cual consiste en dejar caer un cilindro de acero inoxidable (peso de 15 g, 1 cm de largo, 1.7 mm de diámetro y punta roma) de una altura de 5 cm a través de un tubo guía sobre la médula espinal con el fin de ocasionar una lesión severa. El impacto fue confirmado mediante la presencia de un hematoma central a nivel de la zona lesionada. En el caso de las lesiones a nivel T1, se utilizó el método de corte, ya que

debido a la fisiología del animal, el método de contusión no resultó el apropiado. Dicho método consistió en realizar un corte transversal con una micro tijera inmediatamente después de haber llevado a cabo la laminectomía descrita anteriormente. Finalmente, en todos los animales de experimentación se suturó con puntos simples en tres planos: músculo, periostio y piel.

### **5.3.5. Cuidados post-operatorios.**

Terminado el procedimiento quirúrgico, las ratas se dejaron en recuperación, con comida y agua *ad libitum*. Debido a la pérdida de la función autónoma después de la lesión, se tuvo que llevar a cabo el vaciamiento manual de la vejiga en todos los animales. Para el caso de los grupos subcrónicos, los animales se trataron con enrofloxacin (2 mg/kg/24h) y paracetamol (8 mg/kg) 2 veces al día durante 7 días con el fin de evitar infecciones y aliviar la inflamación producida por la lesión. Asimismo, se atendieron todos los incidentes producidos a causa de la lesión (p. ej. autofagia, hipotermia, etc.).

### **5.3.6. Administración de los fármacos.**

La administración de los fármacos se llevó a cabo por vía intravenosa. Para ello, fue necesaria la previa canulación de la vena femoral de la rata, en la cual se insertó directamente un catéter de polietileno (PE-50) de 0.58 mm de diámetro interno para posteriormente administrar los fármacos. Una vez canuladas, las ratas recibieron el tratamiento mostrado en las tablas 10 y 11.

En la etapa dos, las ratas recibieron ya sea el iopamidol por sí solo (244.8 mg/kg, equivalente a 120 mg I<sub>2</sub>/kg), coadministrado con PAH (100 mg/kg), o bien, la misma dosis de iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg) 15 minutos después de la administración de probenecid (50 mg/kg). Por su parte, en la tercera etapa todos los animales recibieron el mismo tratamiento: una dosis única de iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg) seguida inmediatamente de PAH (100 mg/kg), administrando ambos fármacos en menos de 10 segundos.

### 5.3.7. Toma de muestras.

De manera similar, para la toma de muestras, se canuló la arteria femoral insertando directamente un catéter de polietileno (PE-10) de 0.28 mm de diámetro interno unido a un catéter PE-50 que se mantuvo heparinizado para facilitar la toma de muestras durante la cinética.

Se tomaron muestras de 200  $\mu$ L de sangre antes de la administración intravenosa de los fármacos y a los 2.5, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 y 90 min después de la administración de los fármacos. Las muestras se colocaron en tubos cónicos de polietileno de 1.5 mL de capacidad previamente heparinizados. Para el caso de los grupos lesionados (B, D y F), se omitió la toma de muestra a los 15 y 45 min y adicionalmente se tomó a los 120, 150 y 180 min después de la administración de los fármacos. Con el fin de evitar la reducción del volumen circundante en la rata, el mismo volumen de sangre extraído en cada tiempo, fue reemplazado inmediatamente con solución fisiológica.

### 5.3.8. Análisis de muestras.

Una vez obtenidas las muestras sanguíneas, éstas fueron centrifugadas a 9 000 rpm durante 5 min con el fin de obtener 100  $\mu$ L de plasma, los cuales fueron almacenados a -20 °C hasta el día de su análisis.

Llegado dicho día, las muestras se descongelaron y se les adicionó 50  $\mu$ L del EI (PABA, 100  $\mu$ g/mL) y 850  $\mu$ L del extrayente ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ , 2.5%). Posteriormente se agitaron en un vortex durante 5 min y fueron centrifugadas a 9 000 rpm durante otros 5 min para tomar 100  $\mu$ L del sobrenadante e inyectarlos en el equipo de cromatografía. Finalmente, se determinó la cantidad de cada fármaco presente en cada una de las muestras por medio del procedimiento analítico que se describió con anterioridad.

#### **5.4. Evaluación de la función renal tras una Lesión Medular.**

Con el fin de evaluar la función renal, se utilizaron el iopamidol y el PAH como marcadores de filtración glomerular y secreción tubular, respectivamente. Además, para justificar su uso como marcadores, se llevó a cabo un estudio farmacocinético que permitiera determinar si el iopamidol estaba siendo filtrado en su totalidad o si existía un componente secretor durante su eliminación (etapa 2 del estudio).

Una vez corroborado su uso como marcadores de FG y ST, respectivamente, se evaluó la función renal en presencia de lesión medular (etapa 3 del estudio). Para ello, los 36 animales utilizados fueron aleatoriamente designados a unos de los 6 grupos de estudio (tabla 11), teniendo así, 3 grupos lesionados con sus respectivos controles (6 grupos en total).

##### **5.4.1. Efecto del nivel de la lesión medular sobre la farmacocinética de iopamidol y del PAH tras una administración intravenosa.**

Con el fin de determinar el efecto del nivel de la lesión medular sobre la eliminación renal, se evaluó la farmacocinética de ambos fármacos tras llevar a cabo las lesiones a dos niveles: T1, equiparable con una lesión alta (casi cervical) (grupo B), y T8 (grupo D), correspondiente a una lesión baja. Los resultados de dichas cinéticas se compararon con sus respectivos controles (grupos A y C, respectivamente) y entre ellos mismos (grupo B vs grupo D).

##### **5.4.2. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética de iopamidol y del PAH tras una administración intravenosa.**

De la misma forma, para valorar el efecto del tiempo transcurrido después de una lesión medular sobre la eliminación renal, se evaluó la farmacocinética de ambos fármacos a distintos tiempos (24 h y 14 días) después de haber provocado una lesión baja (a nivel T8).



### 5.5. Determinación de los parámetros farmacocinéticos.

El área bajo la curva ABC  $_{0 \rightarrow \infty}$ , la vida media ( $t_{1/2}$ ), la depuración (Cl) y el volumen de distribución aparente ( $V_d$ ), se estimaron con la ayuda del programa de computación WinNonlin versión 2.1 (Metzler y Gabrielsson, 1995) conforme a las siguientes ecuaciones:

$$ABC_{0 \rightarrow \infty} = ABC_{0 \rightarrow t} + C_{last} / \lambda$$

$$t_{1/2} = \text{Ln}(2) / \lambda \text{ (Checar anexo B).}$$

$$V_d = D / ABC_{0 \rightarrow \infty} * \lambda$$

$$Cl = D / ABC_{0 \rightarrow \infty}$$

Donde:  $ABC_{0 \rightarrow t}$  = Área bajo la curva hasta la última concentración

$ABC_{0 \rightarrow \infty}$  = Área bajo la curva desde la administración del fármaco extrapolada hasta el infinito.

$C_{last}$  = Concentración sanguínea de fármaco en el último punto experimental.

$\lambda$  = Constante de eliminación.

$t_{1/2}$  = Tiempo de vida media.

$V_d$  = Volumen de distribución aparente basada en el ABC.

Cl = Depuración del fármaco.

D = Dosis del fármaco administrado.

### 5.6. Análisis estadístico.

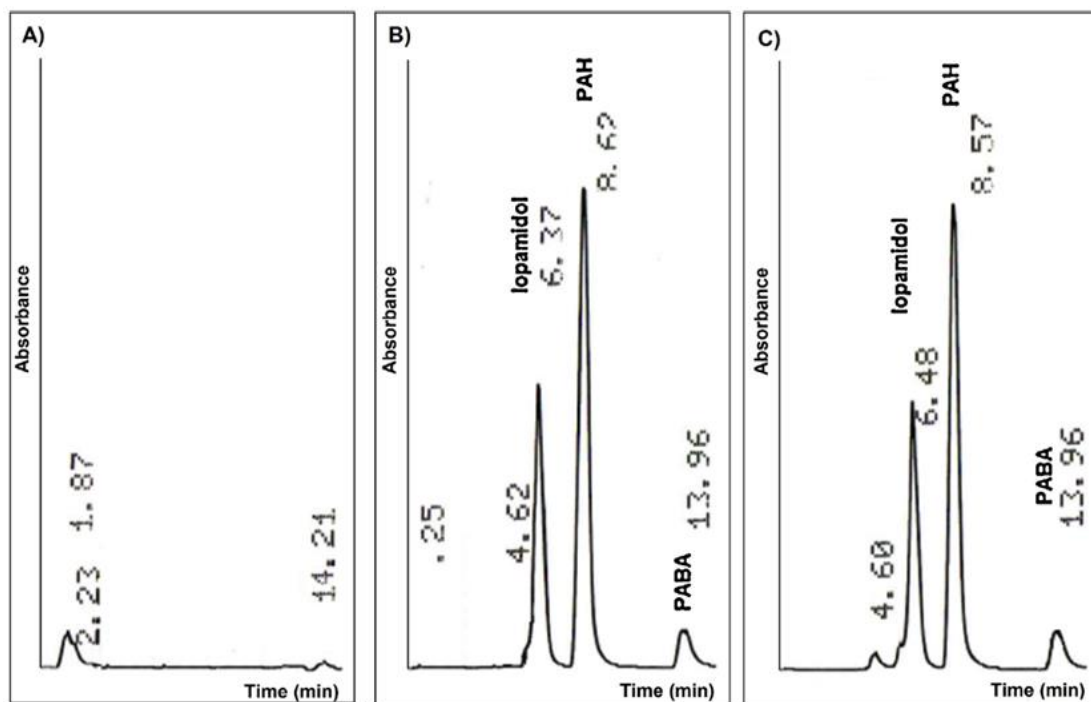
La comparación entre los parámetros farmacocinéticos entre cada uno de los grupos lesionados y sus respectivos controles, fue realizada mediante un análisis de varianza seguido por la prueba estadística de Dunnett. Por conveniencias estadísticas, después de probar que no hubieran diferencias significativas entre los controles (T1, T8 a 24 h y T8 después de 14 días), la cirugía control a nivel T8 (24 h), fue tomada como el grupo control. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $p < 0.01$ . Lo anterior se llevó a cabo con el apoyo del programa Sigma Stat V3.5.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Validación del Método Analítico.

#### 6.1.1. Selectividad.

Al comparar los cromatogramas de las muestras blanco (libre de fármaco) (Fig. 13A), la mezcla de iopamidol, PAH y PABA en solución (Fig. 13B) y la mezcla de los compuestos de interés en la matriz biológica a las mismas concentraciones (Fig. 13C), no se encontró ninguna interferencia en su cuantificación; apareciendo en primer lugar el iopamidol, con un tiempo de retención de 6.48 min, seguido del PAH a los 8.57 min y finalmente del estándar interno (PABA), a los 13.96 min (Fig. 13 B y C), obteniendo un tiempo total de corrida de 14 minutos.



**Fig. 13. Cromatogramas representativos.** A) Muestra blanco de plasma de rata. B) y C) Muestras en solución acuosa y plasma conteniendo iopamidol (90  $\mu\text{g/mL}$ ), PAH (80  $\mu\text{g/mL}$ ) y PABA (5  $\mu\text{g/mL}$ ), respectivamente. Los tiempos de retención aparecen indicados en min.

### 6.1.2. Curvas de calibración.

Los resultados de las seis curvas de calibración obtenidas para el iopamidol y el PAH se presentan en las tablas 12 y 13, respectivamente. Dichas tablas muestran las relaciones de alturas para cada concentración de los respectivos fármacos de interés y el promedio obtenido de las mismas. Se observa que los coeficientes de variación para cada uno de los puntos de la curva promedio cumplen con lo establecido en la NOM-177-SSA1-2013.

**Tabla 12. Curva de calibración del método para el iopamidol.**

Iopamidol ( $\mu\text{g/mL}$ )	Iopa/ PABA	Iopa/ PABA	Iopa/ PABA	Iopa/ PABA	Iopa/ PABA	Iopa/ PABA	PROM	% CV
15	0.66	0.61	0.77	0.65	0.80	0.76	0.71	10.84
30	1.55	1.63	1.68	1.96	1.94	1.93	1.78	10.08
60	4.00	4.17	3.25	4.00	3.13	3.71	3.71	11.63
90	5.43	6.00	6.00	6.00	5.36	5.14	5.65	6.89
120	8.00	8.55	8.55	7.38	6.67	6.79	7.65	10.95
$r^2$	<b>0.99</b>	<b>1.00</b>	<b>0.99</b>	<b>0.99</b>	<b>0.99</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>10.08</b>

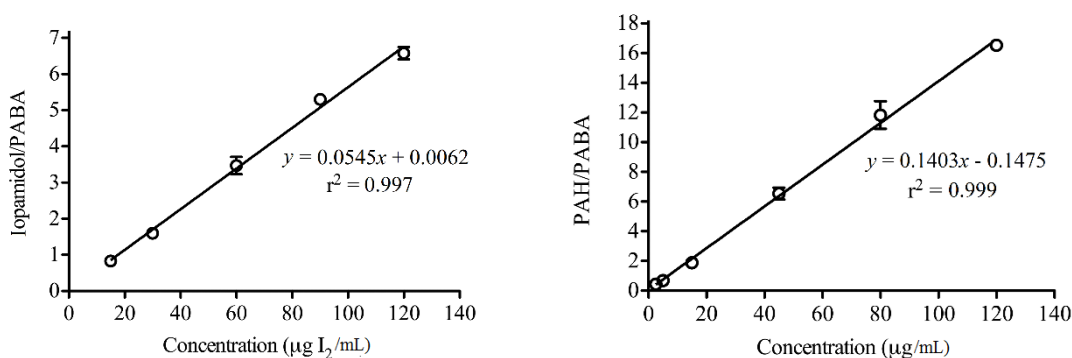
$r^2$ = Coeficiente de determinación, %CV= por ciento de coeficiente de variación.

**Tabla 13. Curva de calibración del método para el PAH.**

PAH ( $\mu\text{g/mL}$ )	PAH/ PABA	PAH/ PABA	PAH/ PABA	PAH/ PABA	PAH/ PABA	PAH/ PABA	PROM	% CV
2.5	0.28	0.34	0.32	0.33	0.31	0.32	0.32	6.87
5	0.68	0.68	0.78	0.67	0.70	0.70	0.70	5.58
15	2.10	2.10	2.06	2.05	2.07	2.08	2.08	1.11
45	6.00	6.33	4.75	6.17	4.69	5.43	5.56	12.95
80	9.43	10.83	10.83	10.83	9.57	9.43	10.15	7.34
120	16.17	17.27	17.27	15.08	13.20	13.86	15.47	11.15
$r^2$	<b>0.99</b>	<b>1.00</b>	<b>0.99</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>1.00</b>	<b>7.50</b>

$r^2$ = Coeficiente de determinación, %CV= por ciento de coeficiente de variación.

Los modelos matemáticos que describieron la relación entre la concentración y la respuesta obtenida, fueron:  $y=0.0545x+0.0062$  y  $y=0.1403x-0.1475$  para el iopamidol y el PAH, respectivamente (Fig. 14). En el caso de iopamidol, se analizaron 5 niveles de concentración: 15, 30, 60, 90 y 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , mientras que para el PAH, seis niveles de concentración fueron las analizadas: 2.5, 5, 15, 45, 80 y 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Ambos fármacos presentaron un coeficiente de determinación mayor a 0.99 e interceptos cercanos a cero, indicando que el método es lineal en el intervalo de las concentraciones analizado (15 a 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para el caso de iopamidol y 2.5 a 120  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para el del PAH).



**Fig. 14. Curvas de calibración del método analítico para la determinación de iopamidol (izquierda) y PAH (derecha) en plasma de rata.**

Cada punto representa el promedio de 6 determinaciones  $\pm$  error std.

### 6.1.3. Recobro.

El porcentaje de recobro para el iopamidol fue del 90 al 94%, mientras que para el PAH fue del 98 al 102%. Estos se estimaron comparando las pendientes de sus curvas estándar en agua y en plasma (tabla 14). En ambos casos, los coeficientes de determinación fueron mayores a 0.99 y los interceptos cercanos a cero.

### 6.1.4. Precisión y exactitud.

Los resultados de precisión y exactitud del método analítico para determinar iopamidol y PAH en plasma de rata, se encuentran en las tablas 15 y 16, respectivamente, donde se observa que la precisión intra-día e inter-días no excedió el

8% del coeficiente de variación en ninguno de los dos fármacos y que sus porcentajes de recobro o exactitud, se encontraron dentro del intervalo establecido como aceptable: 85 – 115 %.

**Tabla 14. Curvas estándar de iopamidol y del PAH en agua y en plasma.**

	$y = mx + b$		$r^2$
	m	b	
<b>Solución acuosa</b>			
<b>Iopamidol</b>	0.060 ± 0.003	0.914 ± 0.027	0.999 ± 0.001
<b>PAH</b>	0.140 ± 0.005	0.018 ± 0.076	0.998 ± 0.002
<b>Plasma</b>			
<b>Iopamidol</b>	0.055 ± 0.003	0.006 ± 0.151	0.997 ± 0.004
<b>PAH</b>	0.140 ± 0.004	-0.148 ± 0.110	0.999 ± 0.003

\*Los resultados se presentan como el promedio ± D.E.

**Tabla 15. Precisión y Exactitud intra-día e inter-día para la determinación de iopamidol.**

C teórica (µg/mL)	Repetibilidad <sup>a</sup>			Reproducibilidad <sup>b</sup>		
	C obtenida (µg/mL)	CV	Exactitud (%)	C obtenida (µg/mL)	CV	Exactitud (%)
17	17.79 ± 1.27	7.14	104.63	18.34 ± 0.64	3.50	107.89
50	50.80 ± 1.71	3.37	101.61	50.39 ± 3.45	6.85	100.77
100	101.73 ± 3.20	3.14	101.73	100.20 ± 1.73	1.73	100.20

<sup>a</sup>n = 5, <sup>b</sup>n = 2/día durante 3 días

**Tabla 16. Precisión y Exactitud intra-día e inter-día para la determinación del PAH.**

C teórica (µg/mL)	Repetibilidad <sup>a</sup>			Reproducibilidad <sup>b</sup>		
	C obtenida (µg/mL)	CV	Exactitud (%)	C obtenida (µg/mL)	CV	Exactitud (%)
3.75	3.81 ± 1.25	5.51	101.61	3.89 ± 0.11	2.73	103.78
22	21.81 ± 0.92	4.21	99.13	22.51 ± 1.21	5.36	102.33
90	91.76 ± 3.64	3.97	101.95	90.43 ± 4.00	4.42	100.48

<sup>a</sup>n = 5, <sup>b</sup>n = 2/día durante 3 días

### 6.1.5. Límite de cuantificación.

Los límites de cuantificación para el iopamidol y el PAH se fijaron en 15  $\mu\text{g/mL}$  y 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Estos se determinaron por medio del análisis de cinco muestras del punto más bajo de la curva de calibración (Tabla 17). Dichas concentraciones cumplen con los parámetros de exactitud y precisión, donde la exactitud de iopamidol fue del 99% y del 89% para el PAH, presentando CVs que no excedieron el 10 % y cumpliendo así con lo indicado en la normatividad mencionada.

**Tabla 17. Determinación del límite de cuantificación de iopamidol y del PAH.**

IOPAMIDOL			PAH		
$C_{\text{teórica}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$C_{\text{obtenida}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Exactitud	$C_{\text{teórica}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$C_{\text{obtenida}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Exactitud
<b>15</b>	17.30	115.35	<b>2.5</b>	2.24	89.74
	14.41	96.06		2.15	86.01
	13.62	90.77		2.11	84.23
	14.26	95.06		2.57	102.62
	15.04	100.28		2.11	84.59
<b>PROM</b>	<b>14.93</b>	<b>99.50</b>	<b>PROM</b>	<b>2.24</b>	<b>89.44</b>
<b>DE</b>	1.42	9.48	<b>DE</b>	0.19	7.68
<b>CV</b>	9.53	9.53	<b>CV</b>	8.59	8.59

### 6.1.6. Límite de detección.

Siguiendo el método de diluciones marcado en la NOM-177-SSA1-2013, se analizaron 4 concentraciones menores al límite de cuantificación establecido tanto para el iopamidol como para el PAH (15 y 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente), siendo 5  $\mu\text{g/mL}$  la cantidad más pequeña de iopamidol que se pudo detectar en el sistema cromatográfico y 0.5  $\mu\text{g/mL}$  para el caso del PAH. Cabe mencionar que ambas mediciones cumplieron con los criterios de precisión y exactitud establecidos en la norma (Tabla 18).

**Tabla 18. Resultados del límite de detección de iopamidol y del PAH.**

IOPAMIDOL				PAH			
C <sub>teórica</sub> (µg/mL)	C <sub>obtenida</sub> (µg/mL)	% CV	Exactitud	C <sub>teórica</sub> (µg/mL)	C <sub>obtenida</sub> (µg/mL)	% CV	Exactitud
<b>12.5</b>	12.38	7.91	99.04	<b>2.0</b>	2.21	2.62	110.50
<b>10</b>	9.70	2.19	97.00	<b>1.5</b>	1.37	2.70	91.30
<b>7.5</b>	7.87	5.05	104.97	<b>1.0</b>	1.08	6.20	108.00
<b>5.0</b>	5.22	1.56	104.35	<b>0.5</b>	0.47	9.05	94.00

### 6.1.7. Estabilidad

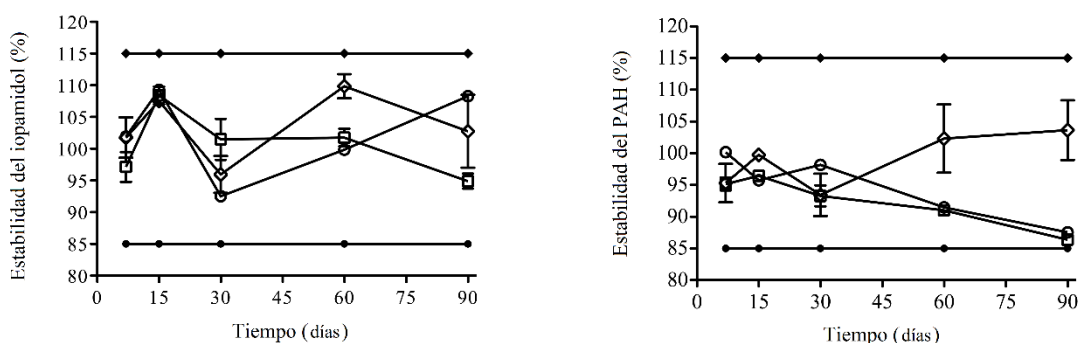
La estabilidad del manejo de las muestras se analizó tras someterlas a 3 ciclos de congelación/descongelación durante 3 días consecutivos. Los resultados de dicho análisis se encuentran en la tabla 19, donde se aprecia que todos los niveles de concentración (baja, media y alta) tanto para el iopamidol como para el PAH, cayeron dentro del 15% de sus concentraciones nominales, cumpliendo con los parámetros establecidos para precisión y exactitud.

**Tabla 19. Estabilidad del manejo\* de la muestra en plasma.**

Muestra Control	IOPAMIDOL		PAH	
	Precisión (%CV)	Exactitud (%)	Precisión (%CV)	Exactitud (%)
<b>Concentración baja</b>	1.08	100.04 ± 1.83	1.24	97.30 ± 1.56
<b>Concentración media</b>	2.11	104.24 ± 2.15	2.04	111.51 ± 2.19
<b>Concentración alta</b>	0.81	97.18 ± 3.92	1.02	108.62 ± 3.76

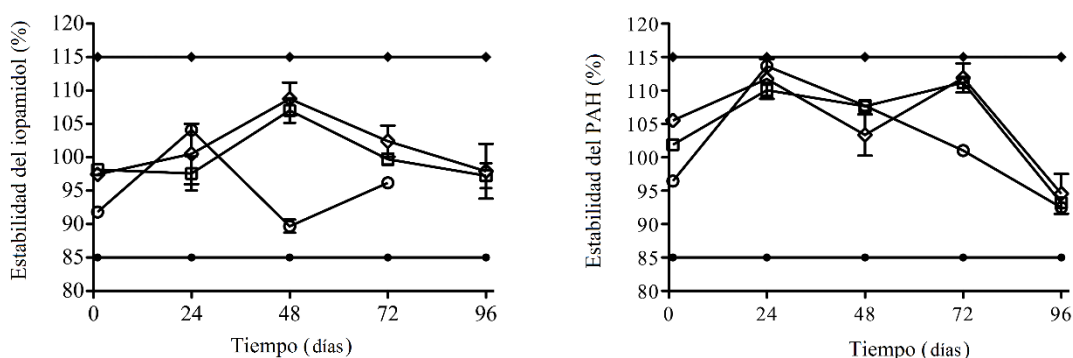
\*Después de someter las muestras a 3 ciclos de congelación/descongelación (Los resultados son el promedio de dos determinaciones en 3 días consecutivos)

Con el fin de conocer el tiempo máximo de almacenamiento de las muestras que asegurara la correcta cuantificación de iopamidol y del PAH, se evaluó la estabilidad de la muestra no procesada durante distintos tiempos de almacenamiento (7, 15, 30, 60 y 90 días). Los resultados de dicho análisis mostraron que es posible cuantificar ambos analitos hasta un periodo máximo de almacenamiento de 90 días, cumpliendo con lo establecido en la normatividad respectiva (Fig. 15).



**Fig. 15. Estabilidad a largo plazo de iopamidol (izquierda) y del PAH (derecha) en plasma de rata.** Cada punto representa el promedio de 2 determinaciones  $\pm$ error estándar para 3 niveles de concentración ( $\circ$ , bajo;  $\square$ , medio;  $\diamond$ , alto), dentro de los límites máximo ( $\blacklozenge$ ) y mínimo ( $\bullet$ ) permitidos.

Asimismo, se evaluó la estabilidad de la muestra a corto plazo con el fin de asegurar la correcta cuantificación de los compuestos de interés (iopamidol y PAH) tras distintos periodos de haber preparado la muestra (24, 48, 72 y 96 h). Tanto el iopamidol como el PAH fueron estables hasta por 72 h, cumpliendo con los parámetros establecidos anteriormente (Fig. 16).



**Fig. 16. Estabilidad a corto plazo de iopamidol (izquierda) y del PAH (derecha) en plasma de rata.** Cada punto representa el promedio de 2 determinaciones  $\pm$ error estándar para 3 niveles de concentración ( $\circ$ , bajo;  $\square$ , medio;  $\diamond$ , alto), dentro de los límites máximo ( $\blacklozenge$ ) y mínimo ( $\bullet$ ) permitidos.



### **6.1.8. Tolerancia**

El método descrito no soportó el cambio en la longitud de onda para la lectura de las muestras (de 270 a 250 nm), ya que la señal de iopamidol se acrecentó, mientras que la señal del estándar interno (PABA) disminuyó de manera drástica, dificultando el registro y por consiguiente la medición de las alturas de los compuestos de interés.

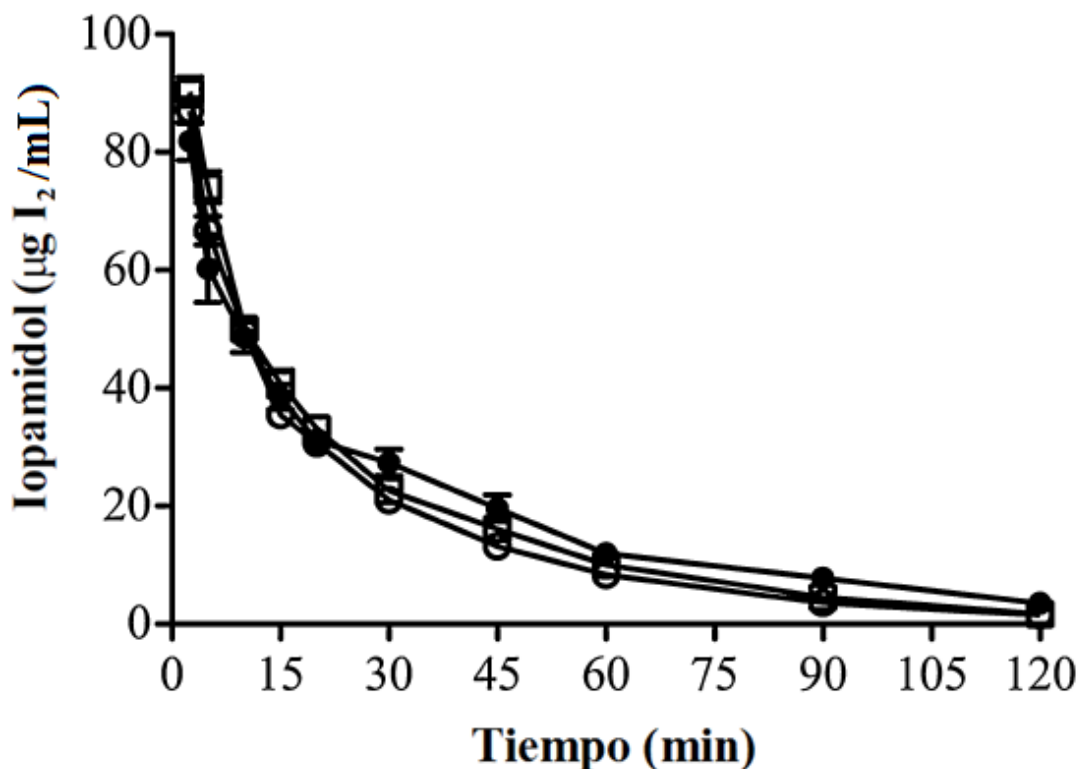
Por otra parte, el método resultó tolerante al aumento en la velocidad de flujo de la bomba (de 0.3 a 0.6 mL/min), logrando la optimización del tiempo de corrida (de analizar las muestras en 14 min, pasaron a analizarse en tan solo 7 min), cumpliendo con los criterios de precisión y exactitud previamente establecidos.

## **6.2. Evaluación de los marcadores de la función renal.**

Una vez montado y validado el método analítico que permitiera cuantificar simultáneamente el iopamidol y el PAH en plasma de ratas, y previo a producir las lesiones medulares, se llevó a cabo la segunda etapa del estudio, la cual consistió en un estudio farmacocinético con el fin de aplicar dicho procedimiento a la estimación simultánea de la TFG y la ST a partir de la depuración de iopamidol y del PAH, respectivamente.

### **6.2.1. Iopamidol como marcador de filtración glomerular.**

La coadministración de iopamidol con PAH o con probenecid no mostró ninguna alteración en su perfil farmacocinético (Fig. 17). De la misma manera, sus parámetros farmacocinéticos también permanecieron iguales (tabla 20). A partir de su depuración, se obtuvo que la TFG fue de  $1.49 \pm 0.20$  mL/min.



**Fig. 17. Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol** tras la administración IV de 244.8 mg/kg de iopamidol solo (●), co-administrado con 100 mg/kg de PAH (○) o con 50 mg/kg de probenecid administrado 15 min antes que el iopamidol (□). Cada punto representa el promedio de seis experimentos  $\pm$  EE.

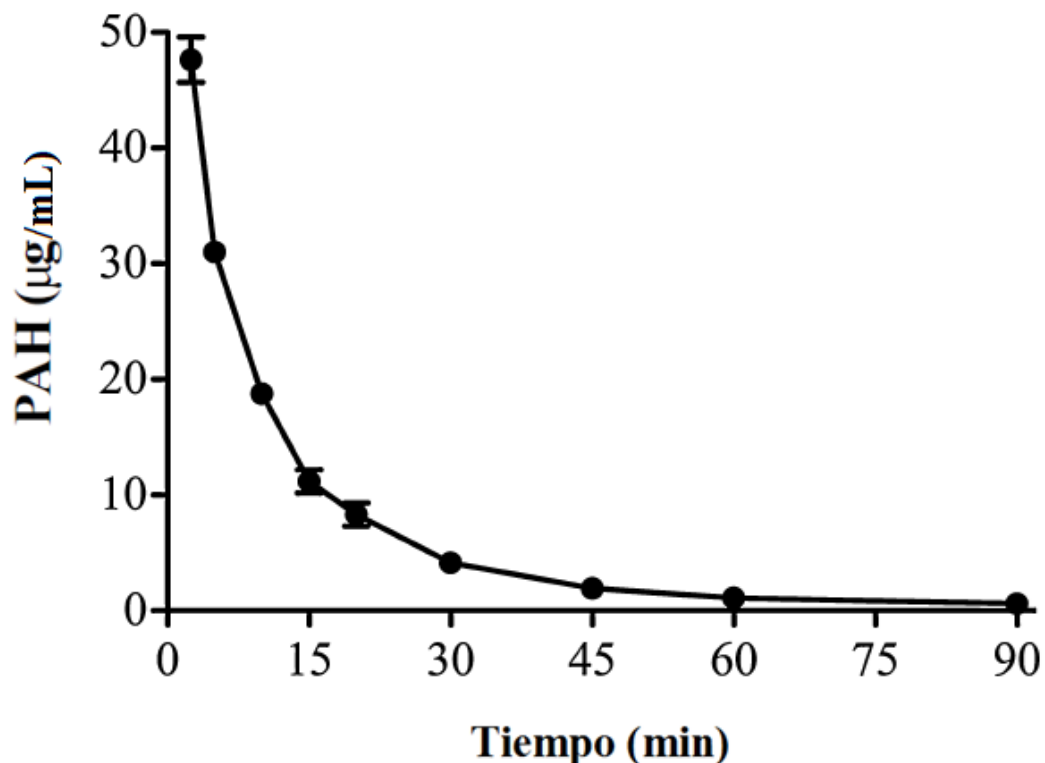
**Tabla 20. Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol y el PAH** tras la administración IV de 244.8 mg/kg de iopamidol solo (a), co-administrado con 100 mg/kg de PAH (b) o con 50 mg/kg de probenecid administrado 15 min antes que el iopamidol (c).

Grupo/ Parámetro	Iopamidol*			PAH*
	Solo <sup>a</sup>	+ PAH <sup>b</sup>	+ Probenecid <sup>c</sup>	
$t_{1/2}$ (min)	26.38 $\pm$ 7.48	22.39 $\pm$ 4.07	24.17 $\pm$ 4.84	23.08 $\pm$ 7.42
ABC <sub>Inf</sub> (µg min/mL)	234.15 $\pm$ 63.13	203.74 $\pm$ 24.90	233.46 $\pm$ 41.45	67.55 $\pm$ 6.90
Vd (mL)	48.64 $\pm$ 4.32	47.37 $\pm$ 4.42	44.77 $\pm$ 3.34	126.21 $\pm$ 50.64
Cl (mL/min)	1.35 $\pm$ 0.31	1.49 $\pm$ 0.20	1.32 $\pm$ 0.22	3.73 $\pm$ 0.38

\*Los datos se presentan como el promedio de seis experimentos  $\pm$  D.E. Usando la prueba estadística de ANOVA, ninguno de los parámetros del iopamidol (a, b, c) fueron significativamente diferentes entre sí.

### 6.2.2. PAH como marcador de secreción tubular.

El perfil de las concentraciones plasmáticas del PAH en presencia de iopamidol (Fig. 18) fue utilizado para determinar su depuración y otros parámetros farmacocinéticos (tabla 20). Al igual que la depuración del iopamidol se utilizó como medida de FG, la depuración del PAH se utilizó como medida de ST, siendo ésta de  $3.73 \pm 0.38$  ml/min.



**Fig. 18.** Concentraciones plasmáticas promedio de PAH tras la administración IV de 100 mg/kg de PAH co-administrado con 244.8 mg/kg de iopamidol. Cada punto representa el promedio de seis experimentos  $\pm$  EE.

### 6.3. Influencia de la lesión medular sobre la eliminación renal.

Una vez evaluados el iopamidol y el PAH como marcadores de FG y ST, respectivamente, ambos fármacos fueron utilizados como indicadores de la función renal para llevar a cabo la última etapa del estudio, que consistió en evaluar el efecto de la lesión medular sobre la eliminación renal.

Todos los animales sometidos a la tercera etapa del estudio, presentaron una actividad locomotora normal previa a cada uno de los tratamientos (cirugías control o lesión medular), sin embargo, 24 horas después del procedimiento quirúrgico, las ratas lesionadas mostraron paraplejía, mientras que los animales control, exhibieron una actividad locomotora normal una vez que se recuperaron de la anestesia.

### 6.3.1. Efecto del nivel de la lesión medular aguda sobre la farmacocinética de iopamidol.

De acuerdo al análisis estadístico, los grupos control no mostraron diferencias significativas entre sí en ninguno de los parámetros evaluados (tabla 21), por lo que los resultados de la cirugía control a nivel T8 se tomaron como valores de referencia para llevar a cabo la prueba estadística de Dunnett y poder comparar cada uno de los niveles de la lesión con un solo grupo control.

**Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol tras una lesión aguda.**

Grupo/ Parámetro	Nivel T1		Nivel T8	
	Control	LM	Control	LM
<b>t<sub>1/2</sub> (min)</b>	21.03±4.43	161.43±51.71*	26.11±3.41	31.69±2.82 <sup>‡</sup>
<b>ABC<sub>Inf</sub> (µg h/mL)</b>	132.93±31.02	1663.58±444.79*	148.66±18.91	464.10±156.93 <sup>‡</sup>
<b>Vd (mL)</b>	60.27±15.95	46.01±3.01*	67.30±15.28	47.52±15.08*
<b>Cl (mL/min)</b>	1.93±0.23	0.20±0.06*	1.88±0.15	0.62±0.22* <sup>‡</sup>

t<sub>1/2</sub>, tiempo de vida media; ABC<sub>Inf</sub>, área bajo la curva extrapolada al infinito; Vd, volumen de distribución; Cl, depuración. Comparado con controles, \*p<0.01 y \*p<0.05; <sup>‡</sup>Comparación entre niveles (T8 con respecto a T1), p<0.01. Los datos se presentan como el promedio de 6 animales ± D.E.

Después de la coadministración intravenosa de iopamidol (244.8 mg/kg) con el PAH (100 mg/kg), las ratas control exhibieron una rápida disminución en los niveles plasmáticos del fármaco, siendo indetectables después de 90 min. Sin embargo, los grupos lesionados (tanto T1 como T8), ocasionaron un incremento en las concentraciones plasmáticas de iopamidol, siendo dicho efecto aún más pronunciado en el caso de las ratas lesionadas a un nivel alto (T1) (Fig. 19 y 20).

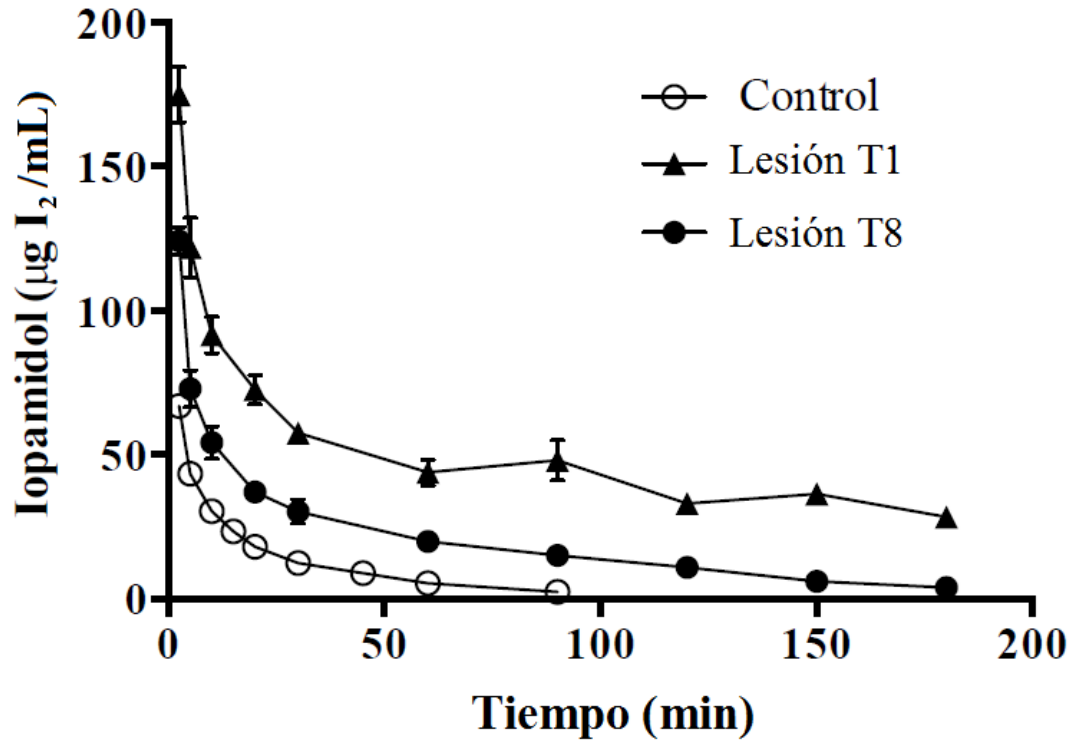


Fig. 19. Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol tras una lesión aguda a nivel T1 (▲) y T8 (●) así como su control (○). Cada punto representa el promedio de seis experimentos ± EE.

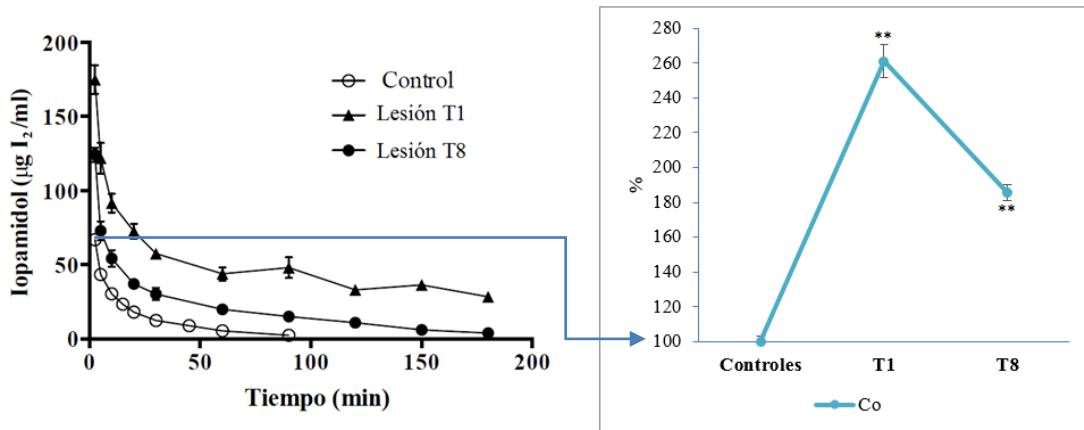


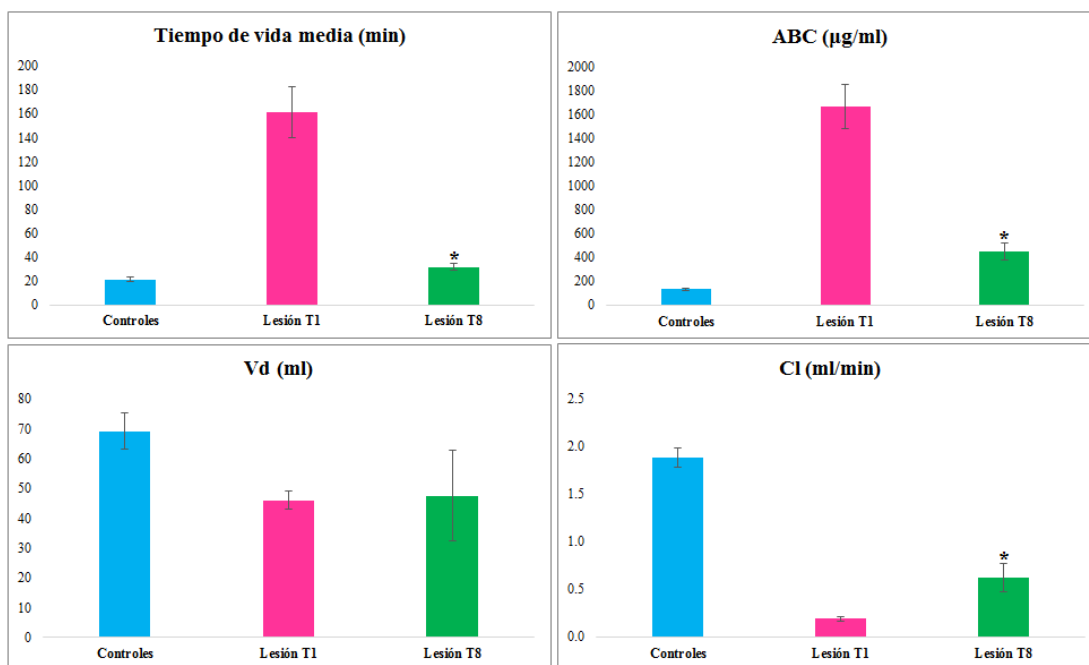
Fig. 20. Cambios en la concentración plasmática inicial de iopamidol.

\*\*Diferencias significativas con respecto al control ( $p < 0.01$ )

Asimismo, el análisis estadístico arrojó que tanto el nivel alto (T8) como el bajo (T1) de la lesión alteraron todos los parámetros farmacocinéticos estudiados (tabla

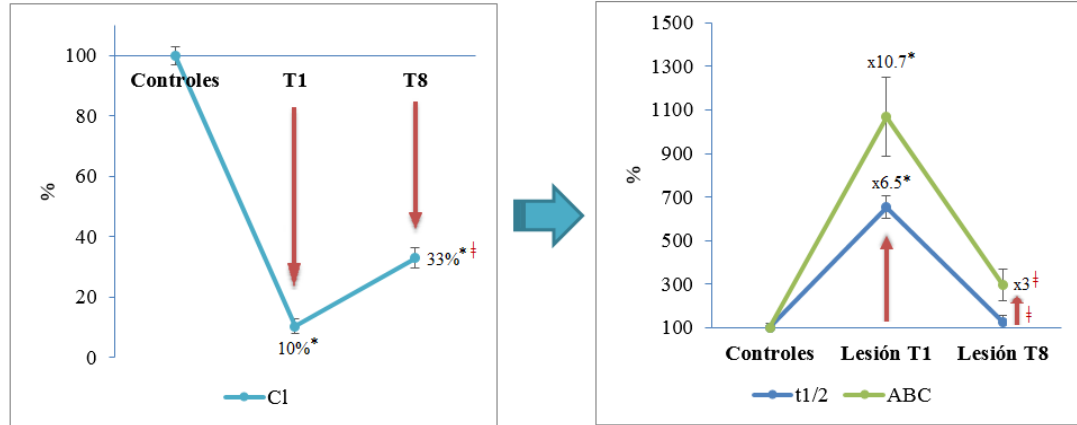
21). Para poder apreciar mejor dichas alteraciones, las figuras 21 y 22 presentan los resultados de manera gráfica, donde se observa que la lesión a nivel T1 mostró los cambios más dramáticos, ya que el ABC y el tiempo de vida media incrementaron 10.7 y 7 veces más en comparación con los controles, respectivamente. Asimismo, la depuración cayó a tan solo 10% de su valor inicial, mientras que el volumen de distribución, aunque con menor grado de significancia, presentó una caída de alrededor del 25%.

Por otra parte, la lesión baja (a nivel T8) incrementó 3 veces el ABC de iopamidol y 1.5 veces su tiempo de vida media con respecto a los controles. Sin embargo, solo mostró un impacto estadísticamente significativo en la depuración y el volumen de distribución de iopamidol, cayendo al 33% y al 77% de sus valores iniciales. Además, mostró diferencias significativas con respecto a la lesión alta (T1) en el tiempo de vida media, ABC y depuración (Fig. 21 y 22).



**Fig. 21. Cambios en los parámetros farmacocinéticos de iopamidol tras una lesión aguda, para los grupos control y lesionados a nivel T1 y T8.**

\*Diferencia significativa con respecto al nivel T1 ( $p < 0.01$ ).



**Fig. 22. Consecuencias del cambio en la depuración de iopamidol.**

\*Diferencias significativas con respecto al control y ‡entre niveles ( $p < 0.01$ ).

### 6.3.2. Efecto del nivel de la lesión medular durante una lesión aguda sobre la farmacocinética del PAH

Los parámetros farmacocinéticos del PAH se muestran en la tabla 22, donde se observa que la farmacocinética del PAH no mostró diferencias significativas entre el grupo control a nivel T1 y el control a nivel T8 en ninguno de los parámetros evaluados ( $t_{1/2}$ ,  $ABC_{Inf}$ ,  $V_d$  y  $Cl$ ), por lo que los resultados de la cirugía control a nivel T8 se tomaron como valores de referencia para llevar a cabo la prueba estadística de Dunnett.

Al igual que con el iopamidol, después de la coadministración intravenosa de ambos fármacos, las ratas control presentaron una rápida disminución en los niveles plasmáticos del PAH, los cuales alcanzaron una concentración de  $5 \mu\text{g/mL}$  a los 30 min y fueron indetectables después de los 90 min (por debajo de  $0.5 \mu\text{g/mL}$ ). Por su parte, el grupo de la lesión alta (T1) mostró un incremento notable en las concentraciones plasmáticas del PAH a la vez que prolongó su tiempo de retención en el organismo, mientras que la lesión baja (T8) solo exhibió un ligero cambio en las concentraciones iniciales, alcanzando concentraciones por debajo de los  $5 \mu\text{g/mL}$  desde los 60 min (Fig. 23 y 24).

Tabla 22. Parámetros farmacocinéticos para el PAH tras una lesión aguda.

Grupo	Nivel T1		Nivel T8	
	Control	LM	Control	LM
$t_{1/2}$ (min)	21.87±5.91	52.99±16.83*	23.49±7.32	33.35±2.82
$ABC_{inf}$ ( $\mu\text{g h/mL}$ )	60.40±13.36	248.81±70.61*	60.91±13.81	78.14±17.81 <sup>†</sup>
Vd (mL)	126.28±22.50	76.79±13.98*	131.58±25.50	156.84±18.51 <sup>‡</sup>
Cl (mL/min)	3.97±0.61	1.00±0.42*	4.08±0.57	2.30±0.59 <sup>‡</sup>

$t_{1/2}$ , tiempo de vida media;  $ABC_{inf}$ , área bajo la curva extrapolada al infinito; Vd, volumen de distribución; Cl, depuración. Comparado con controles, \* $p < 0.01$  y <sup>‡</sup> $p < 0.05$ ; <sup>†</sup>Comparación entre niveles (T8 con respecto a T1),  $p < 0.01$ . Los datos se presentan como el promedio de 6 animales  $\pm$  DE.

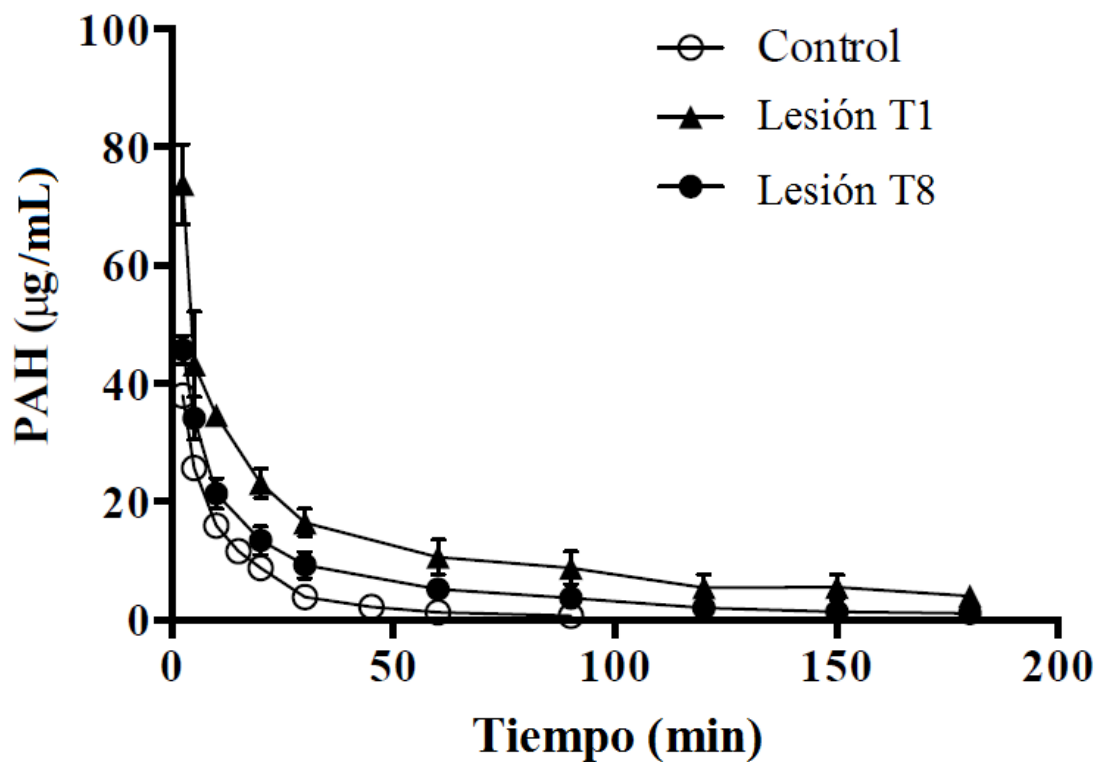
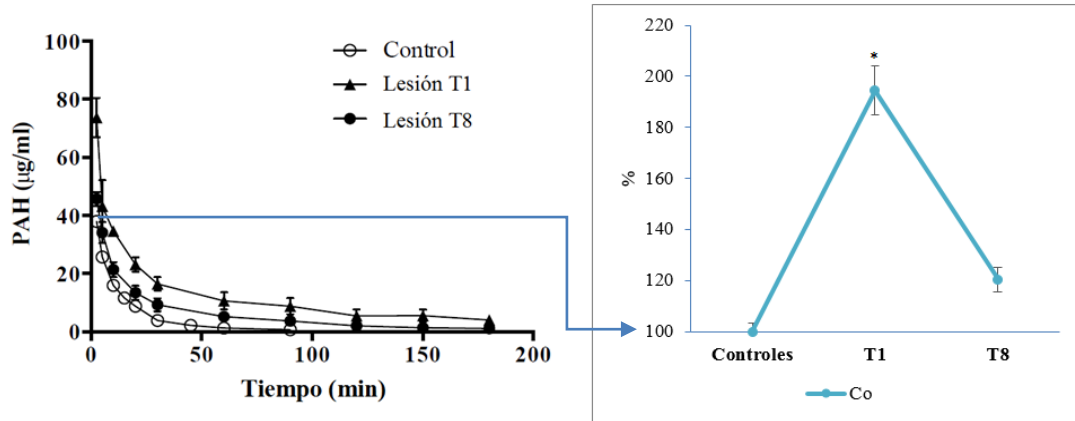


Fig. 23. Concentraciones plasmáticas promedio del PAH tras una lesión aguda a nivel T1 (▲) y T8 (●) así como su control (○). Cada punto representa el promedio de seis experimentos  $\pm$  EE.



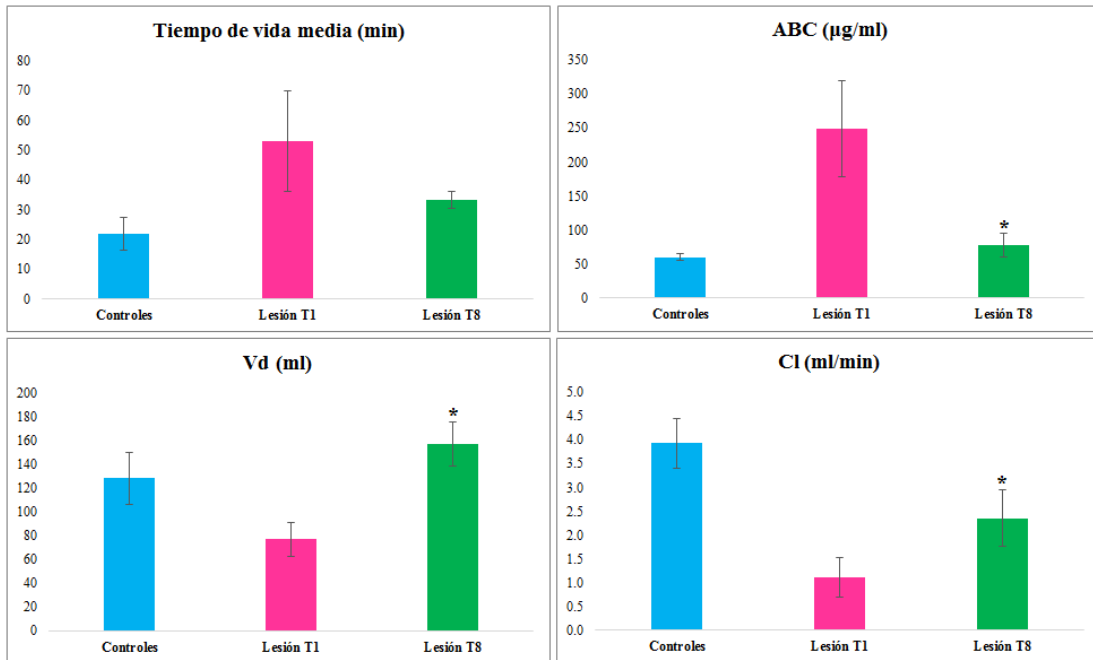


**Fig. 24. Cambios en la concentración plasmática inicial del PAH.**

\*Diferencias significativas con respecto al control ( $p < 0.05$ ).

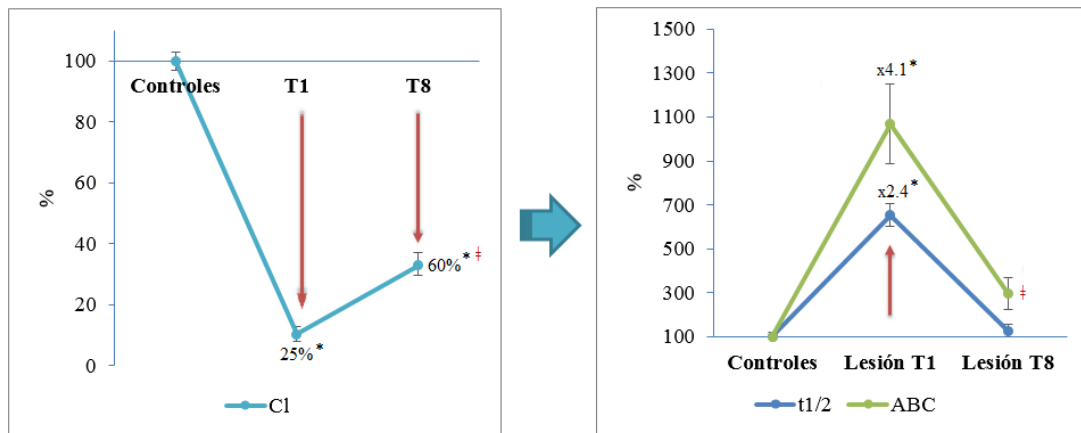
Ambos niveles de la lesión aumentaron tanto el ABC como el tiempo de vida media del PAH (Fig. 25). Sin embargo, la diferencia con respecto a los controles alcanzó a ser significativa únicamente después de la lesión alta (Tabla 22). Por su parte, el volumen de distribución y la depuración fueron estadísticamente diferentes de los controles tras la lesión a ambos niveles. La depuración sistémica del PAH se redujo al 25% tras una lesión alta (T1), mientras que en el caso de la lesión más baja (T8) disminuyó sólo al 60% (Fig. 26).

Con el fin de apreciar mejor las diferencias antes mencionadas, la figura 25 muestra de manera gráfica los cambios sufridos en cada uno de los parámetros farmacocinéticos tras una lesión medular alta (T1) y baja (T8). Asimismo, revela que con excepción del tiempo de vida media del PAH, las alteraciones en el resto de los parámetros evaluados fueron estadísticamente diferentes entre niveles (T1 y T8).



**Fig. 25. Cambio en los parámetros farmacocinéticos del PAH tras una lesión aguda, para los grupos control y lesionados a nivel T1 y T8.**

\*Diferencia significativa con respecto al nivel T1 ( $p < 0.01$ ).



**Fig. 26. Consecuencias del cambio en la depuración del PAH.**

\*Diferencias significativas con respecto al control y †entre niveles ( $p < 0.01$ ).

### 6.3.3. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética de iopamidol.

Después de la coadministración intravenosa de iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg) con el PAH (100 mg/kg), las concentraciones circulantes de iopamidol se incrementaron únicamente en el caso de la lesión aguda (24 h) a nivel de la octava zona medular con respecto a los controles e incluso a la lesión sub-crónica (14 días después de ocurrida la lesión), la cual no mostró cambios significativos con respecto al perfil farmacocinético de su control (Fig. 27 y 28).

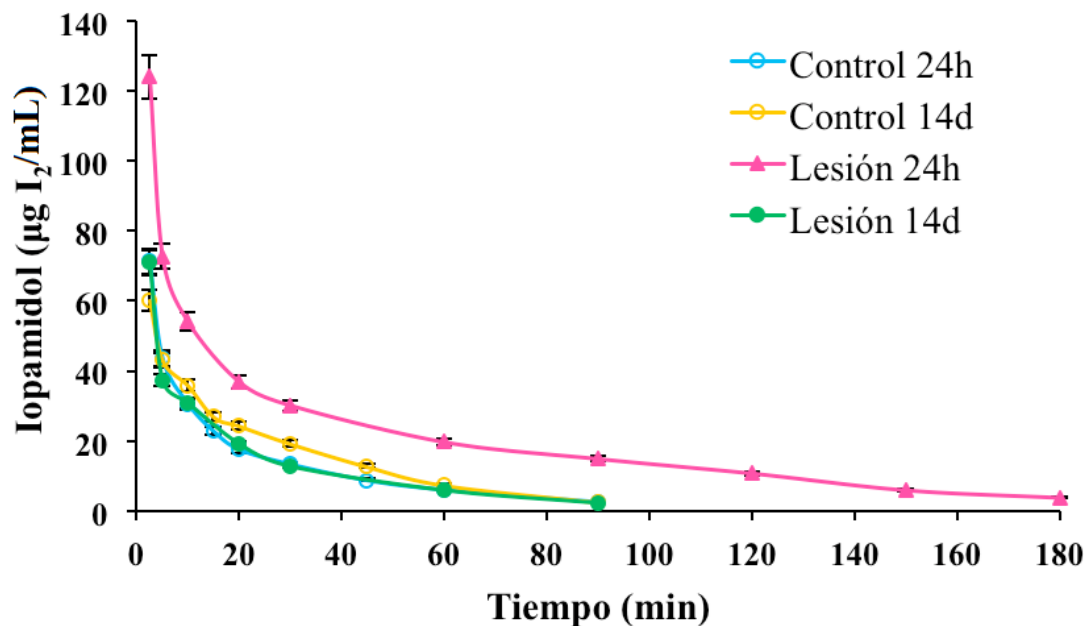


Fig. 27. Concentraciones plasmáticas promedio de iopamidol tras una lesión a nivel T8, 24h (▲) y 14 días (●) después de ocurrida la lesión, así como sus respectivos controles (○). Cada punto representa el promedio de seis experimentos ± EE.

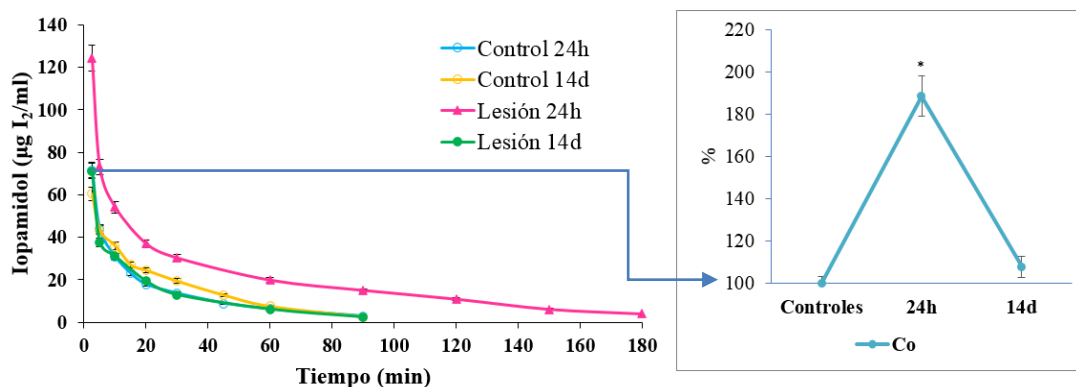


Fig. 28. Cambios en la concentración plasmática inicial de iopamidol 24 h y 14 días después de la LM. \*Diferencias significativas con respecto al control ( $p < 0.01$ ).

Los parámetros farmacocinéticos de iopamidol se muestran en la tabla 23, donde se observa que únicamente la depuración de iopamidol mostró diferencias significativas con respecto a los controles tras una lesión aguda (24 h) (Fig. 29). Sin embargo, la lesión sub-crónica, es decir, 14 días después de ocurrida la lesión, no presentó diferencias significativas con respecto al control, aunque sí comparado con la lesión aguda.

Tabla 23. Parámetros farmacocinéticos para el iopamidol tras una lesión a nivel T8.

Grupo	Lesión aguda 24 h post-lesión		Lesión sub-crónica 14 días post-lesión	
	Control	LM	Control	LM
$t_{1/2}$ (min)	26.11±3.41	31.69±2.82	24.89±1.25	23.22±3.01
$ABC_{Inf}$ (µg h/mL)	148.66±18.91	464.10±156.93	154.05±9.54	148.47±5.09
Vd (mL)	67.30±15.28	47.52±15.08	63.42±4.54	66.72±6.43
Cl (mL/min)	1.88±0.15	0.62±0.22*	1.86±0.10	2.03±0.07 <sup>†</sup>

$t_{1/2}$ , tiempo de vida media;  $ABC_{Inf}$ , área bajo la curva extrapolada al infinito; Vd, volumen de distribución; Cl, depuración. Comparado con controles, \* $p < 0.01$  y <sup>†</sup>entre tiempo después de la lesión. Los datos se presentan como el promedio de 6 animales ± D.E.

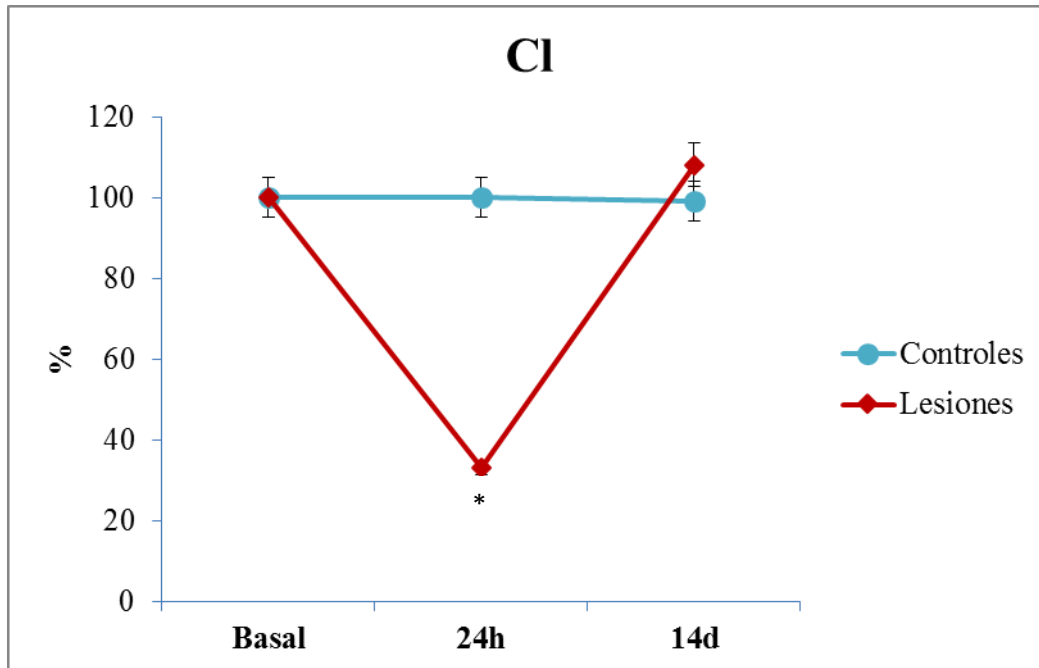


Fig. 29. Cambios en la depuración de iopamidol en función al tiempo.

\*Diferencias significativas con respecto al control ( $p < 0.01$ ).

#### 6.3.4. Efecto del tiempo de la lesión medular a nivel T8 sobre la farmacocinética del PAH.

Similar a lo observado con el iopamidol, tras la coadministración intravenosa del PAH (100 mg/kg) con el iopamidol (120 mg I<sub>2</sub>/kg), las ratas control presentaron una rápida disminución en los niveles plasmáticos del PAH, los cuales alcanzaron una concentración de alrededor de 6 µg/mL a los 30 min y fueron indetectables después de los 90 min (por debajo de 0.5 µg/mL). En el caso de las lesiones, las concentraciones circulantes del PAH, se incrementaron únicamente tras una lesión aguda (24 h), alcanzando concentraciones cercanas a los 5 µg/mL a los 60 min y por debajo de estas a partir de los 90 min (Fig. 30 y 31).

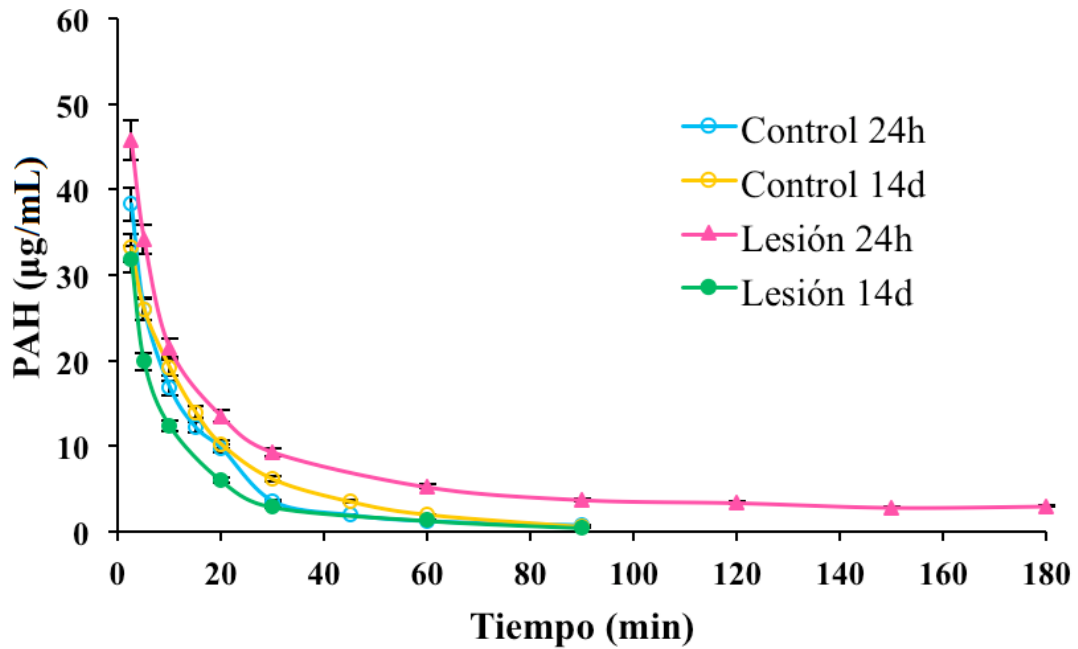


Fig. 30. Concentraciones plasmáticas promedio del PAH tras una lesión a nivel T8, 24h (▲) y 14 días (●) después de ocurrida le lesión, así como sus respectivos controles (○). Cada punto representa el promedio de seis experimentos ± EE.

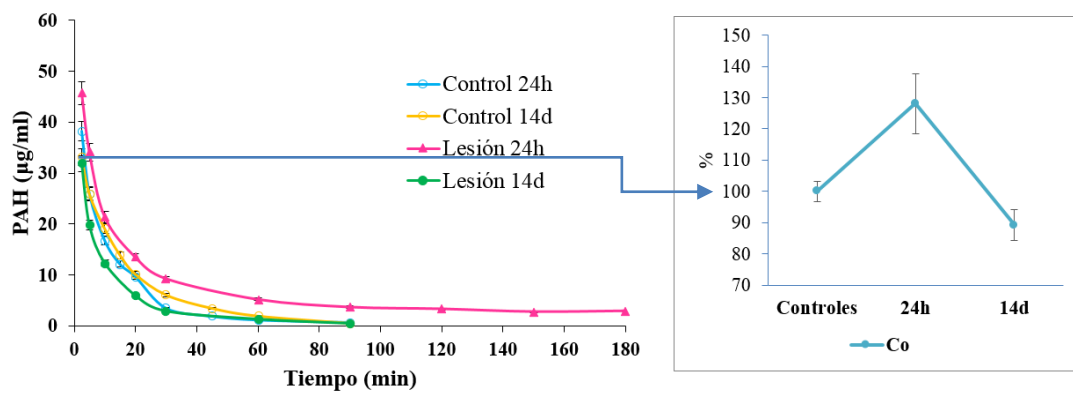


Fig. 31. Cambios en la concentración plasmática inicial del PAH 24 h y 14 días después de la LM.

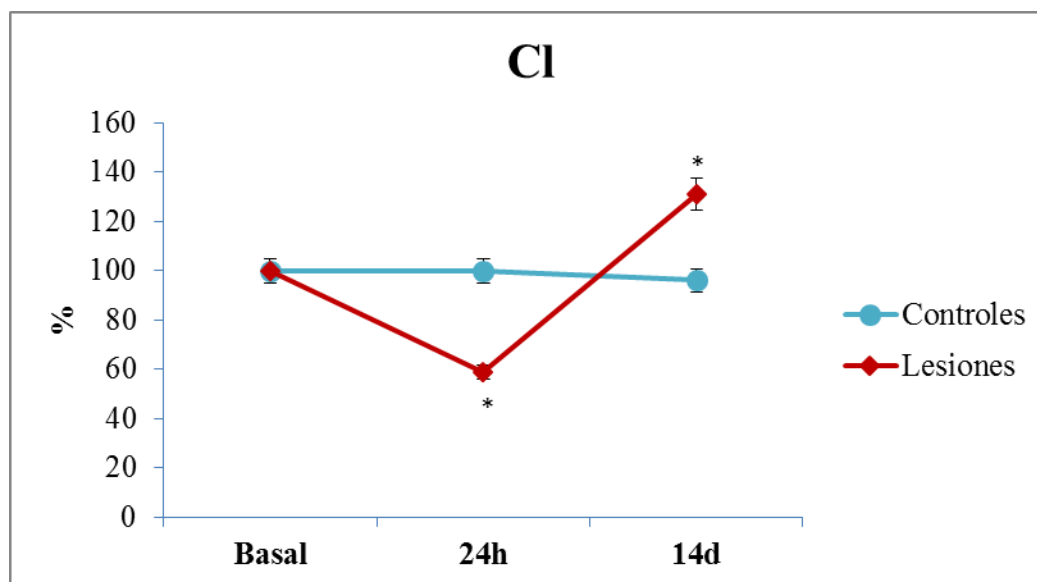
Los parámetros farmacocinéticos del PAH se muestran en la tabla 24, donde se observa que únicamente la depuración del PAH mostró diferencias significativas con respecto a los controles tras una lesión tanto aguda (24 h) como sub-crónica (14 días)

(Fig. 32). Asimismo, mientras que en el caso de la lesión aguda dicha depuración disminuyó, 14 días después, ésta aumentó, mostrando diferencias significativas entre ambas lesiones.

**Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos para el PAH tras una lesión a nivel T8.**

Grupo	Lesión aguda		Lesión sub-crónica	
	24 h post-lesión		14 días post-lesión	
	Control	LM	Control	LM
<b>t<sub>1/2</sub> (min)</b>	23.49±7.32	33.35±2.82	16.95±2.22	22.02±4.83
<b>ABC<sub>Inf</sub> (µg h/mL)</b>	60.91±13.81	78.14±17.81	66.48±2.79	48.99±2.17
<b>Vd (mL)</b>	131.58±25.50	156.84±18.51	91.84±11.42	158.37±30.80
<b>Cl (mL/min)</b>	4.08±0.57	2.30±0.59*	3.79±0.16	5.15±0.21* <sup>‡</sup>

t<sub>1/2</sub>, tiempo de vida media; ABC<sub>Inf</sub>, área bajo la curva extrapolada al infinito; Vd, volumen de distribución; Cl, depuración. Comparado con controles, \*p<0.01; <sup>‡</sup>y entre tiempos (14 días con respecto a 24 h después de ocurrida la lesión). Los datos se presentan como el promedio de 6 animales ± DE.



**Fig. 32. Cambios en la depuración del PAH en función al tiempo.**

\*Diferencias significativas con respecto al control (p<0.01).

## 7. DISCUSIÓN.

La lesión medular (LM) es un proceso patológico que resulta de la alteración temporal o permanente de la función motora, sensitiva y/o autonómica. En otras palabras, es el daño que sufre la medula espinal que conlleva déficit neurológico con efectos a largo plazo que persisten a lo largo de la vida del paciente lesionado (Strassburguer-Lona, Hernandez-Porras y Barquin-Santos). Aunque el daño más notorio es el motriz, una LM implica mucho más que usar una silla de ruedas y, muchas veces, los problemas de movilidad no son los más importantes a los que los pacientes se enfrentan, ya que a nivel fisiológico, produce un desbalance en las funciones reguladas por el SNA que se traduce en una serie de alteraciones en diversos sistemas, como lo son el cardiovascular, el gastrointestinal, el renal, el endócrino y el inmune (Guízar-Sahagún et al., 1998).

De manera general, se ha visto que esta serie de daños depende de varios factores tales como el nivel, la intensidad y el tiempo después de ocurrida la lesión (García-López y Salas, 1999; Ibarra et al., 1996). De acuerdo al nivel de la lesión, esta puede ocasionar tetraplejia (lesiones cervicales) o paraplejia (lesiones torácicas, lumbares y sacras), siendo las lesiones cervicales las más dañinas, ya que se ven involucradas mayor número de conexiones nerviosas y por lo tanto, causantes de un mayor daño al paciente. Por otra parte, de acuerdo a la intensidad, una lesión puede ser completa (severa) o incompleta (moderada), siendo la completa la más perjudicial, ya que la conexión nerviosa se pierde por completo y la recuperación del paciente resulta más complicada. Asimismo, el tiempo después de ocurrida la lesión juega un papel importante en el desarrollo de las alteraciones seguidas a una LM, siendo la etapa temprana o aguda (durante el choque espinal) la más crítica debido a la pérdida del balance autonómico y del tono simpático (Atkinson y Atkinson, 1996; Guízar-Sahagún et al., 1998; Nockels, 2001).



Hasta el momento, se ha estudiado el impacto que tiene una LM sobre la farmacocinética de fármacos administrados comúnmente a pacientes lesionados, sin embargo, no resulta factible estudiar cada uno de ellos. En cambio, es indispensable caracterizar las alteraciones en cada uno de los procesos farmacocinéticos involucrados en la disposición de los fármacos, es decir, la absorción (en el caso de una administración enteral), la distribución, el metabolismo y la eliminación en pacientes con esta traumatología. Esto, con el fin de identificar y entender los mecanismos fisiológicos que pueden impactar en cada uno de estos procesos (A, D, M, E) y así poder dosificar adecuadamente al paciente a fin de evitar cualquier tipo de fallas farmacológicas y/o terapéuticas (Gilman, Brunnemann y Segal, 1993).

Considerando que alrededor de 1 de cada 200 personas en México presenta una incapacidad motriz debida a una LM provocada por un accidente (INEGI, censo 2010), resulta de vital importancia resolver el problema de manera inmediata, ya que todos estos pacientes requieren de una terapia farmacológica permanente que les permita conservar una calidad de vida permisible y prevenir otro tipo de daños a los que se encuentran expuestos. Por ello, es necesario encontrar cuanto antes las bases farmacológicas que permitan diseñar una estrategia racional para poder medicar a esta población de pacientes de manera adecuada y evitar fallas terapéuticas, farmacológicas y toxicológicas.

Por otro lado, también es necesario tener presente que al desconocer las consecuencias de los daños fisiológicos ocasionados por la LM, los médicos tienden a prescribir la misma dosis recomendada de un medicamento a individuos sanos que a pacientes lesionados. Sin embargo, los problemas surgen cuando no se alcanza el efecto farmacológico deseado, pues los mismos médicos recurren a un aumento en la dosis sin tener presente que esto podría resultar en una seria toxicidad del paciente (García-López y Salas, 1999).

Por lo anterior, es necesario caracterizar los problemas asociados a una LM, no obstante, razones éticas dificultan llevar a cabo estudios sistemáticos en pacientes con LM. Además, la presencia de variables imposibles de controlar como el nivel de la lesión y la intensidad de la misma, complican aún más el estudio detallado en este tipo de población.

Es aquí donde destaca la importancia de contar con una alternativa adecuada para la caracterización de los cambios farmacocinéticos inducidos por una LM. Una de ellas son los modelos animales que nos permiten reproducir de manera confiable una LM simulando los eventos que se presentan en los humanos con esta patología. Dichos modelos ayudan a entender mejor la naturaleza y los aspectos fisiopatológicos que intervienen en la evolución del trauma así como los factores que se alteran en la cinética de los fármacos, dando así la posibilidad de probar diferentes tratamientos (Tator y Fehlings, 1991). Uno de los modelos más aceptados es el modelo de lesión en la rata por el método de contusión (Allen, 1911; Das, 1989), ya que permite controlar tres variables importantes: el nivel, la intensidad y el tiempo de la lesión.

Sin embargo, también se ha visto que existen diferencias con respecto al género y a la cepa de animales utilizados. En cuanto al género, se ha notado que el uso de ratas macho en el estudio de la LM resulta más complicado, ya que al quedar sin movimiento en las extremidades inferiores, se arrastran y se lastiman más fácilmente sus órganos genitales y esto complica aún más el manejo post-operatorio, por lo que se recomienda emplear ratas hembra. Por otra parte, también se ha reportado que la cepa Sprague-Dawley resulta ser la más adecuada para estudiar las alteraciones farmacocinéticas inducidas por una LM (García-López et al., 1996). Por ello, para estudiar las alteraciones en el proceso de eliminación renal causadas por una LM, este estudio se llevó a cabo con ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley.

En modelos experimentales de LM, durante la fase conocida como *choque espinal* (fase aguda de la lesión), el organismo trata de compensar parte del

desequilibrio homeostático presente redistribuyendo el volumen sanguíneo hacia órganos vitales tales como el corazón y el cerebro (Atkinson y Atkinson, 1996; Nockels, 2001), y por lo tanto, disminuye el flujo sanguíneo al resto de los órganos (Atkinson y Atkinson, 1996; Guízar-Sahagún et al., 2004; Segal y Brunnemann, 1989), situación crítica que puede comprometer el buen funcionamiento de tales órganos; siendo importante y necesario comprender los mecanismos asociados a las alteraciones homeostáticas presentes para poder establecer si tales alteraciones tienen impacto o no en la farmacoterapia en los pacientes con lesión medular.

Ahora bien, sabiendo que la excreción renal de un fármaco depende básicamente de tres procesos: la filtración glomerular, la secreción y la reabsorción tubular, y considerando que el 20 % del flujo plasmático pasa por el proceso de FG, dicho proceso podría verse afectado tras una LM, ya que al haber una redistribución anormal del volumen sanguíneo, se produce una disminución en la perfusión sanguínea a órganos no esenciales como el riñón, que es el encargado de llevar a cabo los procesos mencionados y de eliminar la mayoría de los fármacos, por lo que sería factible pensar que la FG también se está viendo alterada de alguna manera.

Pero para poder estudiar el proceso de excreción de un fármaco y conocer la capacidad de filtración de los riñones, se requiere del uso de marcadores de FG, cuya característica principal debe ser su libre filtración glomerular. La inulina es el marcador conocido como el “estándar de oro”, ya que se filtra libremente por el glomérulo sin secretarse ni reabsorberse por los túbulos, además de ser fisiológicamente inerte. Sin embargo, su uso rutinario en la clínica no resulta del todo factible, ya que tiene un alto costo y su método de análisis es muy tardado debido a que requiere de su infusión continua, además de mediciones repetitivas y de la recolección de orina del paciente (Frennby y Sterner, 2002; Stevens y Levey, 2009).

En la práctica clínica, en cambio, la depuración de creatinina es el método de elección, ya que al ser una sustancia endógena, no requiere de la infusión continua de

la misma. Sin embargo, la creatinina es considerada como un marcador de FG pobre, ya que sus concentraciones se ven influenciadas por el sexo y la dieta del individuo; sin mencionar que se requiere la recolección de orina de 24 h del paciente (Gabel, Ranaei y Kivlighn, 1996). Por si fuera poco, en pacientes con LM, el nivel de creatinina disminuye significativamente como resultado de la atrofia muscular difusa que comúnmente acompaña a la denervación del músculo (Chikkalingaiah, Grant, Mangold, Cooke y Wall, 2010; Mohler, Barton, Blouin, Cowen y Flanigan, 1986), por lo que el medir los niveles séricos de creatinina no resulta ser un método sensible en el monitoreo de la función renal en esta población de pacientes, ya que la depuración renal del marcador es sobreestimada (Lavezo y Davis, 1995; MacDiarmid et al., 2000; Mirahmadi et al., 1983; Sawyer y Hutchins, 1982). A su vez, esta sobreestimación resulta en la dosificación inadecuada de medicamentos eliminados vía renal, ya que sufren depuraciones superiores a las recomendadas, y esto podría conducir a concentraciones séricas por arriba del nivel terapéutico deseado de fármacos como la vancomicina y los aminoglucósidos, y consecuentemente, provocar una nefrotoxicidad (Hidayat, Hsu, Quist, Shriner y Wong-Beringer, 2006; Kahlmeter y Dahlager, 1984; Mohler, Ellison y Flanigan, 1988; Rybak et al., 2009; Young y Ensom, 2011). De la misma manera, esta alteración podría estar ocultando una reducción clínicamente significativa en la TFG del paciente (Thomassen, Johannesen, Erlandsen, Abrahamsen y Randers, 2002).

Dado que este ha sido un problema recurrente en estudios clínicos de LM, diversas ecuaciones han sido planteadas a partir de las ya existentes para tratar de predecir la depuración renal en pacientes lesionados, sin embargo, todas ellas incluyen niveles de creatinina sérica, y dado que éstos son altamente variables en este tipo de pacientes, dichas ecuaciones resultan inadecuadas para la estimación de la depuración renal de fármacos (Lee y Dang, 2011).

Aunque también se ha hecho uso del radiomarcaje para poder evaluar la función renal, este tiene la gran desventaja de la exposición a la radioactividad durante la

prueba, así como el inconveniente tanto del almacenamiento como del desecho del material radioactivo que se genera (Gabel et al., 1996).

Todo lo anterior sugiere que hasta ahora, ninguna de las técnicas utilizadas para evaluar la capacidad de filtración de los riñones en pacientes con LM ha resultado adecuada para esta población, haciendo evidente la necesidad de un marcador que sea comparable con la inulina, que es el marcador de referencia, y que sus concentraciones no dependan de la masa muscular del paciente, para así asegurar que los resultados obtenidos tras su análisis sean confiables. En otras palabras, es necesario encontrar una alternativa viable y segura a la depuración de inulina que permita evadir las desventajas de su continua infusión, así como el uso de marcadores radioactivos (Gaspari et al., 1995; Russell y Dubovsky, 1989).

Como respuesta a la necesidad planteada, los medios de contraste radiológicos como el iohexol y el iopamidol, han sido propuestos como una simple y confiable alternativa de marcadores de FG; dadas sus múltiples ventajas, tales como su libre FG, su bajo PM y su unión irrelevante a proteínas, también se ha empleado para medir la función renal por medio de la TFG (Brown y O'Reilly, 1991; Kawada, 1985; Thomsen et al., 1991), con resultados comparables a la depuración de inulina, sugiriendo lo anterior su posible uso como marcador de FG en pacientes lesionados.

A pesar de que la TFG es el índice más aceptado para la evaluación de la función renal, no hay que olvidar que además de la FG, la eliminación renal de un fármaco se determina por la interacción de los procesos de secreción y reabsorción en el sistema tubular, involucrando diversos transportadores (Masereeuw y Russel, 2001). Uno de estos, es el transporte de aniones orgánicos, el cual puede tener un impacto importante en el comportamiento cinético de los fármacos, ya que muchos de ellos y/o sus metabolitos, son aniones orgánicos (Masereeuw y Russel, 2010).

Dentro de los aniones orgánicos más conocidos, se encuentra el PAH, cuyo aclaramiento ha sido utilizado como una aproximación del flujo plasmático renal, ya que casi todo el PAH que entra al riñón es removido del plasma y excretado en la orina por medio del túbulo proximal (Eaton y Pooler, 2013; Guyton y Hall, 2006). No obstante, al administrarlo en una dosis alta (100 mg/kg), satura el sistema secretor y puede ser usado para estimar la secreción tubular (Masereeuw y Russel, 2001).

Con el objetivo de caracterizar el impacto que tiene la lesión medular sobre el proceso de eliminación renal, se planteó evaluar el efecto del nivel de la lesión (torácica 1 y torácica 8), en la fase aguda de la LM (24 h) y en la subcrónica (14 días posteriores a la lesión) sobre la farmacocinética intravenosa de dos fármacos eliminados por vía renal: el iopamidol y el PAH, propuestos aquí como marcadores de FG y ST, respectivamente (Rodríguez-Romero et al., 2015). Todo ello utilizando el método de contusión, modelo de lesión ampliamente aceptado en el cual se puede mimetizar una lesión severa (Allen, 1911).

Para poder entender cada uno de los retos enfrentados a lo largo del estudio, a continuación, la discusión se dividirá en las tres etapas mencionadas en la metodología (Fig. 11):

### **7.1. Validación del método analítico por CLAR.**

La importancia de contar con un método analítico validado consiste en probar con evidencia experimental documentada que el procedimiento utilizado cumple con el propósito para el que fue diseñado; en este caso, cuantificar el iopamidol y el PAH en plasma de ratas. Además de establecer las características de desempeño del método y sus limitaciones, la validación permite identificar aquellos factores que puedan modificar su desempeño y el grado de afección que éstos tienen sobre el mismo (NOM-177-SSA1-2013).

Cabe mencionar que previo a este estudio, no se contaba con un método analítico capaz de determinar simultáneamente el iopamidol y el PAH en plasma de ratas. Por ello, el primer paso fue desarrollar y posteriormente validar el método analítico que sería capaz de cuantificar ambos fármacos de manera confiable, segura y eficaz asegurando así su precisión, exactitud y confiabilidad con base en la NOM-177-SSA1-2013, que es la que marca los criterios y requisitos para el análisis químico de muestras biológicas.

Basándose en la Norma Oficial Mexicana, se obtuvo un método analítico capaz de cuantificar el iopamidol y el PAH al mismo tiempo a partir de una muestra de plasma de rata. El método fue selectivo, preciso y exacto con un tiempo de corrida optimizado de 7 min y sin requerir la dilución de las muestras.

A diferencia de un método por HPLC previamente reportado para la determinación de iopamidol (Harapanhalli, Yaghmai, Patel, Baker y Rao, 1993), en el cual usan un buffer costoso y cuya preparación resulta tediosa, el método aquí desarrollado se basó únicamente en el uso de ácido acético como fase móvil.

En cuanto a la cuantificación del PAH, se han descrito diversos métodos por HPLC. Sin embargo, resultan insatisfactorios, ya que algunos requieren de la evaporación de la muestra (Dowling, Frye y Zemaitis, 1998; Ronnhedh, Jaquenod y Mather, 1996), o bien de un tiempo de corrida largo (de aproximadamente 20 min) (Agarwal, 1998; Farthing et al., 2005; Laroute, Lefebvre, Costes y Toutain, 1999). Mientras que otros se caracterizan por su baja precisión o por la necesidad de resinas de intercambio iónico (Marsilio et al., 1997; Seneviratne, Jayewardene y Gambertoglio, 1994).

El método aquí propuesto, permitió cuantificar de manera simultánea el iopamidol y el PAH usando el PABA como estándar interno, obteniendo un tiempo de corrida de 14 min, optimizado a tan solo 7 min, que resultó ser una mejora

significativa en comparación con otros procedimientos similares reportados para la cuantificación de iohexol y PAH (Farthing et al., 2005; Laroute et al., 1999) o iotalamato (Agarwal, 1998; Dowling et al., 1998).

Al evaluar las curvas estándar para ambos fármacos, se observó que los coeficientes de determinación ( $r^2$ ) fueron mayores a 0.99 y que los interceptos de la recta ( $b$ ) estuvieron cercanos a cero (Fig. 14), indicando que el método es lineal en el intervalo de concentraciones evaluado: 15-120  $\mu\text{g/mL}$  para el caso de iopamidol, y 2.5-120  $\mu\text{g/mL}$  para el del PAH. Debido a que se esperaban concentraciones de iopamidol y PAH por arriba de 15  $\mu\text{g/mL}$  y 2.5  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente, estos fueron establecidos como los límites de cuantificación (LC); mientras que los límites de detección (LD) fueron 5  $\mu\text{g/mL}$  y 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. No obstante, en el estudio farmacocinético se encontraron concentraciones por debajo del LC de iopamidol (15  $\mu\text{g/mL}$ ), por lo que se evaluó la precisión y la exactitud de los LD, resultando en mediciones fiables (cumpliendo con los parámetros establecidos).

El recobro para el iopamidol fue del 90-94% mientras que para el PAH fue de 98-102%, indicando que el método es reproducible y eficaz para cuantificar los compuestos de interés en plasma de rata. Finalmente, las pruebas de estabilidad permitieron determinar el periodo máximo al cual podrían analizarse las muestras esperando resultados confiables. Así, la muestra obtenida tras el estudio farmacocinético resultó ser estable durante 3 meses almacenándose a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , mientras que una vez procesada, es decir, adicionando el EI (PABA) y el extrayente ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ), fue estable durante 3 días, cumpliendo con los parámetros establecidos en la NOM-177-SSA1-2013.

El resumen de la primera etapa del estudio es:

- La validación del método analítico permitió asegurar la calidad de los datos obtenidos a partir del mismo, así como cumplir con la normatividad establecida.



- ☑ Al cumplir con la normatividad mexicana (NOM-177-SSA1-2013), el método analítico por CLAR resultó ser específico, preciso y exacto para la determinación simultánea de iopamidol y PAH en pequeños volúmenes (0.1 mL) de muestras de plasma de rata.
- ☑ El método permitió cuantificar cantidades de iopamidol y de PAH a partir de una misma muestra dentro de un intervalo amplio de concentraciones (5-120  $\mu\text{g/mL}$  y 0.5-120  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente) de manera rápida (7 min) y eficaz.
- ☑ Puede ser fácilmente montable y reproducible, lo que permite instaurarlo en cualquier laboratorio de análisis clínico, ya que únicamente se requiere de un equipo de CLAR y el material indispensable para preparar las muestras.
- ☑ El procedimiento es sencillo y económico.

## **7.2. Evaluación de la función renal utilizando iopamidol y PAH como marcadores de filtración glomerular y secreción tubular.**

Una vez validado el método, el siguiente paso fue aplicar el procedimiento para la estimación simultánea de la TFG y la ST como indicadores de la función renal en la rata consciente.

Con el fin de evaluar el iopamidol como marcador de FG, se puso a prueba si contaba o no con un componente secretor. Para ello, se hizo uso del probenecid, un inhibidor competitivo del sistema TAO. Como resultado de ello, se observó que el perfil farmacocinético de iopamidol no fue alterado en presencia del probenecid (Fig. 17), corroborando que únicamente es filtrado y no secretado por la vía de los transportadores de aniones orgánicos.

Más allá de lo encontrado tras esta prueba, los valores de la TFG usando iopamidol ( $1.49 \pm 0.22$  mL/min) (tabla 20), fueron favorablemente comparables con los valores reportados en la literatura para la inulina ( $1.46 \pm 0.13$  mL/min), que es el estándar de oro para la medición de la TFG (tabla 25). Estos resultados no contradicen lo reportado en un estudio en el que se correlaciona la depuración de inulina con la de iohexol, el cual indica que existe una amplia correlación entre ambas depuraciones sobre un amplio intervalo de valores de la TFG (Arvidsson y Hedman, 1990; Gaspari et al., 1995). Asimismo, teniendo presente que los medios de contraste no iónicos como el iopamidol y el iohexol siguen una misma farmacocinética, se ha observado que la eliminación extrarenal de iohexol es despreciable, incluso bajo condiciones extremas ( $TFG < 2-3$  mL/min) (Nilsson-Ehle y Grubb, 1994), lo cual respalda el uso de iopamidol como marcador de FG incluso en estas condiciones.

**Tabla 25. Datos comparativos de la hemodinámica renal de distintas fuentes literarias.**

Estudio	Marcador(es)	Cepa	TFG (mL/min)	FPR (mL/min)
Bouby, 1996	[ <sup>14</sup> C] inulina	Sprague-Dawley	1.63	nd
Jobin, 1985	[ <sup>14</sup> C] inulina	Ratas	1.38	nd
Radin, 1986	[ <sup>3</sup> H] inulina + [ <sup>14</sup> C] TEA Br	Sprague-Dawley	1.41	3.49
Winston, 1985	[ <sup>3</sup> H] inulina + [ <sup>14</sup> C] PAH	Sprague-Dawley	1.40	5.80

Abreviaturas: TFG, tasa de filtración glomerular; FPR, flujo plasmático renal; nd, no determinado; TEA Br, bromuro de tetraetilamonio (TFG promedio: 1.46 mL/min)

Por otra parte, para evaluar al PAH como marcador de ST, se utilizó una dosis de 100 mg/kg, la cual fue la concentración necesaria para saturar el sistema de TAO (mecanismo por el cual se elimina el fármaco). Así, el PAH pudo ser fácilmente identificado tras la coadministración de ambos fármacos (Fig. 18), permitiendo la estimación de la ST sin interferir en la cinética de iopamidol (Fig. 17). Esto coincide con Laroute y colaboradores, quienes mostraron que no existe competencia en los riñones entre el iohexol y el PAH (Laroute et al., 1999). De hecho, ya que el iopamidol está siendo filtrado únicamente por los glomérulos (Bourin et al., 1997), no podría competir con el PAH por la ST.

Cabe mencionar que aunque la depuración del PAH bajo condiciones de saturación se propone como indicador de la ST, debe tenerse en cuenta que existe una fracción que es filtrada a través del glomérulo y otro 15% que se une a proteínas (Reyes, Meléndez, Alegria y Jaramillo-Juárez, 1998), por lo que su depuración termina siendo en cierto grado, una medida de ambas funciones: FG y ST.

En resumen, los resultados obtenidos en la segunda etapa sustentan que el método de cuantificación simultánea de iopamidol y del PAH en plasma es una alternativa viable para determinar la función renal tanto en individuos sanos como en pacientes lesionados, debido a sus múltiples ventajas:

- ☑ Usa como marcador de filtración glomerular un agente de contraste no iónico y de baja osmolaridad que ofrece importantes beneficios para la comodidad del paciente así como para su seguridad (Bourin et al., 1997).
- ☑ La depuración de iopamidol resultó ser comparable con la de inulina (Rodríguez-Romero et al., 2015).
- ☑ No requiere de la colección de orina ni de la continua infusión del marcador de filtración glomerular, como es el caso de la inulina y de la creatinina.
- ☑ Permite estimar de manera simultánea tanto la TFG como la ST a partir de una misma muestra de plasma, permitiendo así la evaluación de la función renal en la rata consciente.
- ☑ Resulta la mejor alternativa para la estimación de estos dos parámetros renales tras una lesión medular, ya que sus concentraciones no dependen de la masa muscular ni de la dieta del individuo.

### **7.3. Influencia de la lesión medular sobre la eliminación renal.**

Una vez que se comprobó la eficiencia del método, éste se usó tras provocar una lesión medular, esta vez enfocándose en las consecuencias de dicho trauma en los procesos involucrados en la eliminación renal: FG y ST, con el fin de identificar las diferencias en cada uno de ellos.

Como es sabido, el riñón juega un papel importante en la eliminación de una amplia variedad de fármacos del organismo (Von Hendy-Willson y Pressler, 2011), por lo que resulta necesario evaluar dicho proceso tras una condición tan crítica como lo es la LM. Esto con el fin de llevar a cabo la correcta dosificación de fármacos eliminados principalmente por vía renal y evitar la nefrotoxicidad de los pacientes.

A pesar de que se ha sugerido que los daños ocasionados por la LM dependen de variables como el nivel y el tiempo de la misma (García-López et al., 1996; García-López y Salas, 1999; Ibarra et al., 1996), hasta el momento no se ha establecido el efecto que ambas variables tienen sobre la función renal, por lo que se decidió evaluarlo con ayuda del método analítico previamente descrito; esto es, utilizando la FG y la ST como indicadores de la función renal.

#### **7.3.1. Efecto del nivel de la lesión medular sobre la eliminación renal durante el choque espinal.**

Considerando que durante la fase aguda de la lesión, conocida como choque espinal, se produce un aumento en la perfusión sanguínea hacia el corazón disminuyendo a la par hacia órganos como el riñón (Atkinson y Atkinson, 1996; Guízar-Sahagún et al., 2004; Segal y Brunnemann, 1989), T1 y T8 fueron las dos zonas medulares elegidas para evaluar la influencia del nivel de la LM aguda (24 h después de inducida la lesión) sobre la función renal.

Se eligió dañar la primera zona medular debido a que las neuronas posganglionares que salen de ella, inervan directamente al corazón, que es el órgano

responsable de distribuir la sangre a todo el organismo; mientras que en la octava zona medular, se encuentra el ganglio mesentérico superior, que es de donde parten las conexiones nerviosas que inervan directamente al riñón, órgano encargado de llevar a cabo la eliminación renal (anexo A).

#### **7.3.1.1.Efecto del nivel de la LM aguda sobre la FG.**

Como resultado de la LM producida, posterior a la coadministración IV de los fármacos, se observaron cambios significativos en las concentraciones sanguíneas de iopamidol presente en el organismo (Fig. 20). En el caso del grupo lesionado a nivel de la octava zona medular (T8), su concentración inicial se incrementó casi al doble; mientras que el nivel más alto (T1) resultó ser el más afectado, incrementando 2.6 veces más con respecto al grupo control. Lo anterior sugiere que la LM provocó que el fármaco se acumulara en el organismo desde el momento de la administración IV, alterando así su proceso de distribución.

En concordancia con un estudio previamente reportado usando iohexol como marcador de FG (Rodríguez-Romero, Cruz-Antonio, Franco-Bourland, Guízar-Sahagún y Castañeda-Hernández., 2013), se confirmó que la LM aguda a nivel T8 disminuyó significativamente la TFG. Además, se encontró que la disminución en la depuración de iopamidol resultó ser más drástica al nivel más alto de la lesión (T1); mientras que T8 cayó al 33% de su valor inicial, la lesión a nivel T1 provocó la caída a tan solo el 10% del mismo. Como consecuencia de dichos cambios, se observó que tanto los valores del tiempo de vida media como del área bajo la curva se incrementaron en distintas proporciones (Fig. 22).

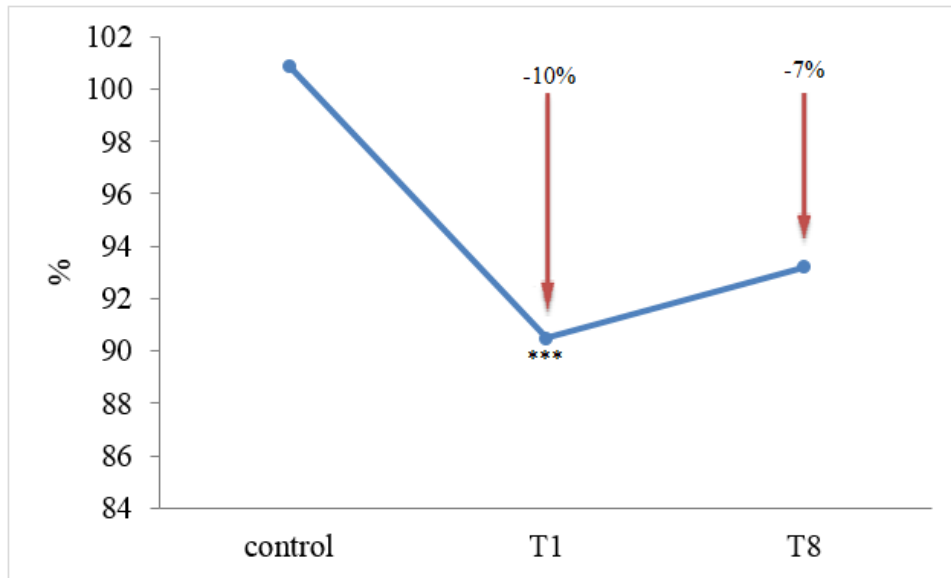
Cabe destacar que también se encontraron cambios significativos en estos tres parámetros (Cl,  $t_{1/2}$  y ABC) al hacer la comparación entre niveles (tabla 21), confirmando una vez más, que mientras más alto sea el nivel de la lesión, mayores serán los daños ocasionados en la cinética de los fármacos eliminados por vía renal,

específicamente por FG, ya que como se ha comprobado, el iopamidol se elimina únicamente por esta vía (Bourin et al., 1997; Rodríguez-Romero et al., 2015).

Estos cambios podrían ser debidos a que la LM genera un desbalance en las funciones reguladas por el SNA, que resulta en una disfunción de diversos sistemas, entre ellos el cardiovascular (Guízar-Sahagún et al., 1998), causando una redistribución del volumen sanguíneo, que resulta en la disminución de la perfusión sanguínea de órganos como el riñón (Bravo, Guízar-Sahagún, Ibarra, Centurion y Villalon, 2004; Seifert et al., 1979), siendo más marcada en la etapa conocida como choque espinal (Gale et al., 1985; Guízar-Sahagún et al., 2004).

Al respecto, se ha visto que la LM a un nivel alto (T1), afecta de manera significativa al flujo microvascular sanguíneo renal, disminuyéndolo en un 10%, lo cual podría justificar los cambios tan drásticos observados en la depuración de iopamidol tras una lesión alta. Por otra parte, la lesión a nivel T8, disminuye el mismo flujo en un 7% sin mostrar diferencias significativas (Fig. 33) (Guízar-Sahagún et al., 2004). No obstante, al observar los resultados de este estudio, podemos sugerir que a pesar de no mostrar diferencias significativas a nivel sistémico, es decir, en el flujo microvascular sanguíneo del riñón, dicha alteración basta para repercutir en la depuración de iopamidol aquí encontrada.

Esto confirma la idea de que mientras más alto sea el nivel de la lesión, mayores serán los daños ocasionados por una LM; en este caso específico, se sugiere que la inestabilidad hemodinámica presente durante la fase de choque espinal, contribuye de manera directa a la capacidad del riñón para filtrar los fármacos de manera adecuada, siendo más crítica en el caso de lesiones altas. Como consecuencia, el fármaco aumenta su tiempo de permanencia dentro del organismo e incrementa las posibilidades de una toxicidad debida al fármaco, sobre todo en el caso de los fármacos potencialmente nefrotóxicos, como lo son los aminoglucósidos, fármacos utilizados ampliamente en esta población de pacientes (Young y Ensom, 2011).



**Fig. 33. Flujo microvascular sanguíneo (FMVS) en el riñón durante el choque espinal** (24 h después) de sufrir una lesión a nivel T1 o T8. \*\*Diferencias significativas entre control y LM T1. (Modificado de Guízar-Sahagún , 2004).

### 7.3.1.2.Efecto del nivel de la LM aguda sobre la ST.

En contraste con el iopamidol, el PAH únicamente mostró cambios significativos en su concentración plasmática inicial tras una lesión en la primera zona medular (T1), incrementándose casi al doble de su línea basal (control) (Fig. 24). Esto podría indicar que los cambios observados tras una LM alta, podrían ser debidos a la fracción del PAH que se está filtrando y no atribuibles a la ST del fármaco, ya que como se presentó en la figura 20, los cambios hemodinámicos son mucho más drásticos a un nivel más alto de la lesión.

Lo anterior confirma que el nivel de la lesión influye en la distribución de los fármacos eliminados por vía renal, probablemente debido a los cambios en el FMVS observados; siendo dicha alteración más drástica a niveles más altos y en el caso de fármacos eliminados por FG, como es el caso de iopamidol.

A diferencia de un estudio previo en el que no se encontraron diferencias significativas en la depuración del PAH tras una LM a nivel T8 (Rodríguez-Romero et al., 2013), aquí se encontró que ambos niveles (tanto T1 como T8) producen cambios significativos en la depuración del mismo, siendo el nivel más alto el que produce el peor daño: mientras que a nivel T8 cayó al 60% de su valor inicial, la lesión T1 provocó la caída a tan solo el 25% del mismo (Fig. 26). En contraste, lo anterior coincide con lo propuesto por Thompson, quien afirma que una disminución en la reabsorción máxima de glucosa puede surgir solo cuando la TFG sufre una reducción del 40-50% como resultado de la disminución del número de nefronas funcionales y de la inadecuada saturación del sistema de transporte de glucosa (Thompson, 1951). En concordancia con esto, se ha visto que si la TFG se reduce en un menor porcentaje (25 %), dicha reducción no es suficiente para afectar el transporte máximo de glucosa (Mavrin, 1976).

En este caso, la TFG sufrió una reducción de más del 50% (Fig. 22), por lo que la ST se pudo ver afectada en mayor o menor medida (Fig. 26) como resultado de la disminución del número de nefronas funcionales. Asimismo, como consecuencia de los cambios drásticos a nivel T1 en la depuración del PAH, se observó que tanto los valores del tiempo de vida media como del área bajo la curva se incrementaron en distintas proporciones (2.4 y 4.1 veces más, respectivamente), siendo estadísticamente significativos con respecto al control (Fig. 26). En contraste, los cambios observados en la depuración del fármaco a nivel T8, no fueron suficientes para alterar ni el tiempo de vida media ni el ABC del fármaco.

De aquí se vuelve importante la especificidad del estudio, ya que gracias al uso de los marcadores de función renal empleados (iopamidol y PAH), es posible detectar cambios simultáneos en la TFG a la par de aquellos en la ST, lo cual no había podido ser posible hasta ahora.



Es por ello que se propone que los cambios observados en el estudio, podrían indicar que ambos parámetros, es decir, tanto la FG como la ST, están funcionalmente interrelacionados. Esto concuerda con Haberle (Haberle et al., 1978), quien sugiere que existe una alta correlación entre la TFG y la secreción renal de PAH bajo condiciones de saturación de los transportadores, tal como se llevó a cabo en el presente estudio. Por tanto, cambios en la secreción del PAH podrían ser el resultado de las variaciones espontáneas en la TFG después de una LM, las cuales podrían acompañarse por variaciones en los flujos de sodio transcelular.

De esta manera, dos mecanismos podrían explicar los cambios observados después del trauma: 1) la caída terrible en la presión arterial, la cual provocó la disminución del flujo sanguíneo renal (Fig. 25), que resultó insuficiente para perfundir los riñones (Guízar-Sahagún et al., 2004), afectando el proceso de eliminación dependiente del flujo renal (FG) y 2) la homeostasis anormal debido al incremento en la secreción hormonal, ya que se ha reportado que durante la etapa aguda de la LM, la secreción de aldosterona se encuentra elevada (Shchurova, Stogov y Dyachkova, 2015; Silver y Doggart, 2004), causando la retención renal de  $\text{Na}^+$  y agua, fenómeno que también se ha encontrado en pacientes con LM (Silver, Doggart y Burr, 1995). Alternativamente, los cambios en la ST reflejados en la depuración del PAH, podrían estar relacionados con la respuesta inflamatoria producida después de una lesión aguda, la cual conduce a una reducción en el espacio tubular (Gris, Hamilton y Weaver, 2008).

Hasta aquí, los resultados sugieren que la LM altera la farmacocinética de fármacos eliminados vía renal. Dichas alteraciones dependen en gran medida del nivel de la lesión, siendo los niveles más altos los más dañinos. Asimismo, la cinética tanto de iopamidol como del PAH, permitió analizar las diferencias entre los procesos de FG y ST, siendo la FG la más afectada. Aunque la ST mostró menores cambios a nivel T8, a un nivel alto de la lesión, el daño fue inevitable.

### 7.3.2. Efecto del tiempo de la lesión medular sobre la eliminación renal.

Usando el modelo experimental de contusión en rata, se han encontrado cambios en la disposición de algunos fármacos durante la fase aguda de la LM; sin embargo, estas alteraciones parecen revertirse cuando se alcanza la fase crónica, sugiriendo que la mayor parte de las alteraciones cinéticas de los fármacos están presentes en la fase aguda de la LM (Cruz-Antonio, Flores-Murrieta, García-López, Guízar-Sahagún y Castañeda-Hernández, 2006; García-López et al., 2007).

Debido a esto, se decidió llevar a cabo la evaluación de la función renal a distintos tiempos con el fin de determinar si los cambios en la misma mejoran o empeoran tras una lesión severa en función al tiempo. Así, se eligió hacer dicha evaluación a las 24 h y 14 días después de inducida la LM a nivel T8.

La evaluación a las 24 h se eligió debido a que la etapa de choque espinal se presenta durante las primeras horas después de ocurrida la lesión. Dicha etapa se caracteriza por la falla generalizada de los circuitos en la red neuronal medular (Hulsebosch, 2002), además de ser el periodo crítico en el que los pacientes reciben un importante número de fármacos que son eliminados vía renal, incluyendo antibióticos tales como aminoglucósidos, para evitar infecciones (García-López et al., 2007; Young y Ensom, 2011).

Los 14 días fueron elegidos como la fase “sub-crónica” del estudio, ya que durante esta etapa es cuando se ven los resultados de la muerte celular isquémica, los cambios electrolíticos y el edema que se forma como consecuencia de la fase aguda de la lesión (Hulsebosch, 2002).

Finalmente, se decidió llevar a cabo dicha evaluación únicamente a nivel de la octava zona medular (T8), ya que el hacerlo en un nivel más alto (T1), aumentaba los índices de mortalidad de los animales.

### 7.3.2.1. Efecto del tiempo de la LM sobre la FG

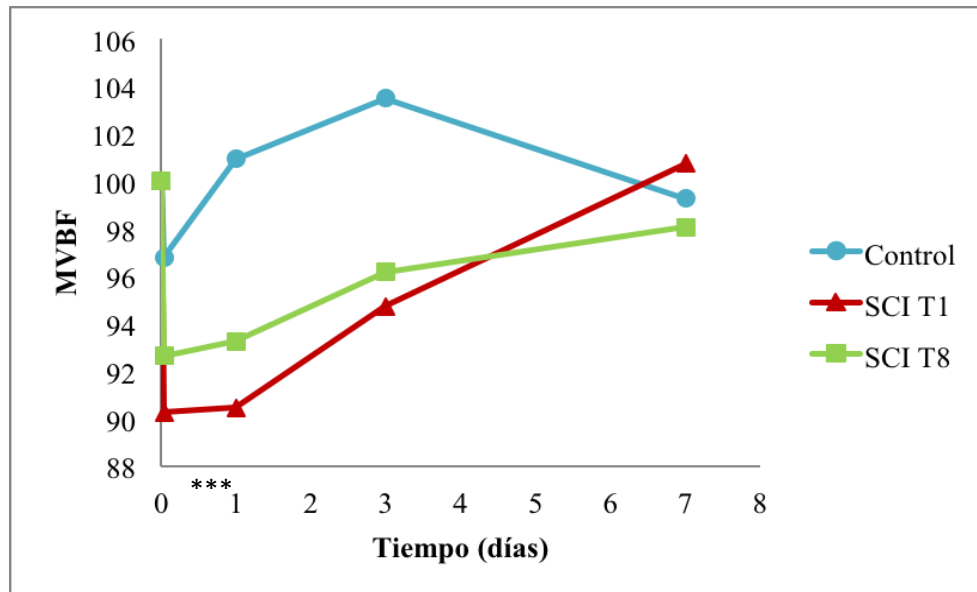
A las 24 horas después de inducida la lesión (aguda) a nivel T8, se observaron cambios significativos en las concentraciones sanguíneas de iopamidol presente en el organismo tras su coadministración IV con el PAH (Fig. 28). Sin embargo, este cambio no se observó a los 14 días de transcurrida la lesión. Lo anterior sugiere que la LM provocó un cambio en el proceso de distribución únicamente durante la lesión aguda pero volviendo a su valor basal 14 días después.

Debido a que la función renal se ve disminuida con respecto a la edad (Bolignano, Mattace-Raso, Sijbrands y Zoccali, 2014; Lindeman, Tobin y Shock, 1985), dos grupos control fueron evaluados: a las 24 h y a los 14 días después de la cirugía control. Esto para estimar el cambio en la función renal en función al tiempo. Sin embargo, se observó que la depuración de ambos controles se mantuvo casi constante, indicando que el intervalo de tiempo evaluado (14 días) no influyó en los resultados obtenidos después de la lesión, ya que no hubo diferencias significativas entre ambos controles (Fig. 29).

Asimismo, al observar los parámetros farmacocinéticos de iopamidol (tabla 21), se confirmó que la lesión medular aguda a nivel T8 disminuye significativamente la TFG. Además, se encontró que dicho cambio fue temporal, ya que a los 14 días después de transcurrida la lesión, los valores de la depuración lograron volver casi a los basales (Fig. 29), sin presentar cambios significativos con respecto a los controles.

Como ya se mencionó anteriormente, la LM trae como consecuencia cambios hemodinámicos que podrían explicar las diferencias observadas a las 24h; sin embargo, se ha visto que el tiempo transcurrido después de la LM también influye de manera significativa en los cambios en el FMVS renal, presentándose diferencias significativas únicamente durante la fase de choque espinal (24 h después de la LM), confirmando lo anteriormente mencionado (Guízar-Sahagún et al., 2004).

Como se aprecia en la Fig. 34, los cambios hemodinámicos en el riñón tras una LM son temporales, ya que a los 7 días después de ocurrida la lesión, se observa que los FMVS lograron volver a sus valores basales sin presentar diferencias significativas con respecto al control (Guízar-Sahagún et al., 2004).



**Fig. 34. Cambios temporales en el flujo microvascular sanguíneo (FMVS) en el riñón** después de sufrir una lesión a nivel T1 o T8. \*\*\*Diferencias significativas entre control y LM T1.

(Modificado de Guízar-Sahagún, 2004).

Los resultados sugieren que la LM produce cambios temporales en la FG, por lo que la eliminación de los fármacos eliminados por vía renal dependerá en gran medida del tiempo transcurrido después de la LM.

### 7.3.2.2.Efecto del tiempo de la LM sobre la ST

A diferencia del iopamidol, no se observaron cambios significativos en las concentraciones sanguíneas del PAH presente en el organismo tras su coadministración IV con iopamidol (Fig. 31) ni a las 24 horas ni a los 14 días después de inducida la lesión a nivel T8. Lo anterior sugiere que la LM en su etapa subcrónica provoca un cambio significativo en el proceso de FG pero no en el de ST.

Asimismo, se observó que la lesión medular aguda a nivel T8 disminuye significativamente la depuración del PAH (tabla 22). Sin embargo, durante la fase sub-crónica, la LM provocó un incremento significativo en la depuración del mismo (Fig. 32), con respecto a los controles.

A continuación se proponen dos mecanismos por los cuales se podrían explicar dichos cambios: 1) por la respuesta sistémica inflamatoria producida después de la lesión aguda (Gris et al., 2008) y como parte de los mecanismos secundarios a la lesión medular (Guízar-Sahagún et al., 1998), o bien, 2) debido a que ambos parámetros (FG Y ST) trabajan en conjunto; por lo que el retorno de la TFG a sus valores basales provoca el aumento en el transporte de PAH por las células tubulares. Esto concordaría con aquellos estudios que afirman que un incremento en la TFG se encuentra asociado con el incremento en la reabsorción de glucosa (Baker, 1974; Kurtzman, 1972; Szalay, Bencsath y Takacs, 1977; Van Liew, 1967), que al igual que el PAH, se encuentra mediado por transportadores.

Los resultados sugieren que la LM produce cambios en la ST en función al tiempo, por lo que la eliminación de los fármacos eliminados por vía renal dependerá en gran medida del tiempo transcurrido después de la LM.

Reuniendo todos los resultados encontrados tras evaluar el impacto de la LM sobre la eliminación renal, así como algunos estudios previos, a continuación se propone un mecanismo posible por el cual se presentan los cambios en la función renal tras una lesión medular.

En primer lugar, la LM produce una serie de alteraciones hemodinámicas caracterizadas principalmente por la redistribución del volumen sanguíneo (Guízar-Sahagún et al., 2004), resultando en el aumento de la irrigación sanguínea hacia el corazón y el cerebro (Fig. 35 A) puesto que son considerados los órganos esenciales.

Pero a la vez, la perfusión sanguínea hacia el riñón se ve considerablemente disminuida (Fig. 35 B), y éste, al no recibir el flujo adecuado, disminuye su capacidad funcional, es decir, no es capaz de filtrar y eliminar los fármacos de manera apropiada. Lo anterior se ve reflejado en una disminución en la depuración de ambos fármacos (Fig. 35 C), manifestando que existe una alteración en los procesos tanto de FG como de ST. El impacto de dichos cambios dependerá principalmente del nivel de la lesión, ya que a niveles altos, los cambios hemodinámicos son más drásticos (Fig. 35 B<sub>1</sub>), y como consecuencia de ello, la FG, dependiente del flujo renal, se verá mayormente afectada en comparación con la ST. Finalmente, estos cambios se reflejan en el aumento tanto en el tiempo de vida media como en el ABC de iopamidol (Fig. 35 D).

Por otra parte, se sugiere que dichos cambios son temporales, ya que en su etapa sub-crónica, la LM no produjo ninguna alteración en el proceso de FG (Fig. 35 E). Esto debido a que en esta etapa de la lesión, los cambios en el flujo renal han vuelto a sus niveles basales (Fig. 35 B<sub>2</sub>), lo cual asegura la perfusión normal del riñón y por tanto, el buen funcionamiento renal; sin embargo, la depuración del PAH mostró un aumento tras el mismo periodo, indicando que el proceso de ST (Fig. 35 F), mecanismo dependiente de transportadores, sufre una alteración secundaria probablemente debida a la homeostasis anormal a causa de la LM (Silver y Doggart, 2004), o bien, como mecanismo compensatorio a la recuperación de la FG.

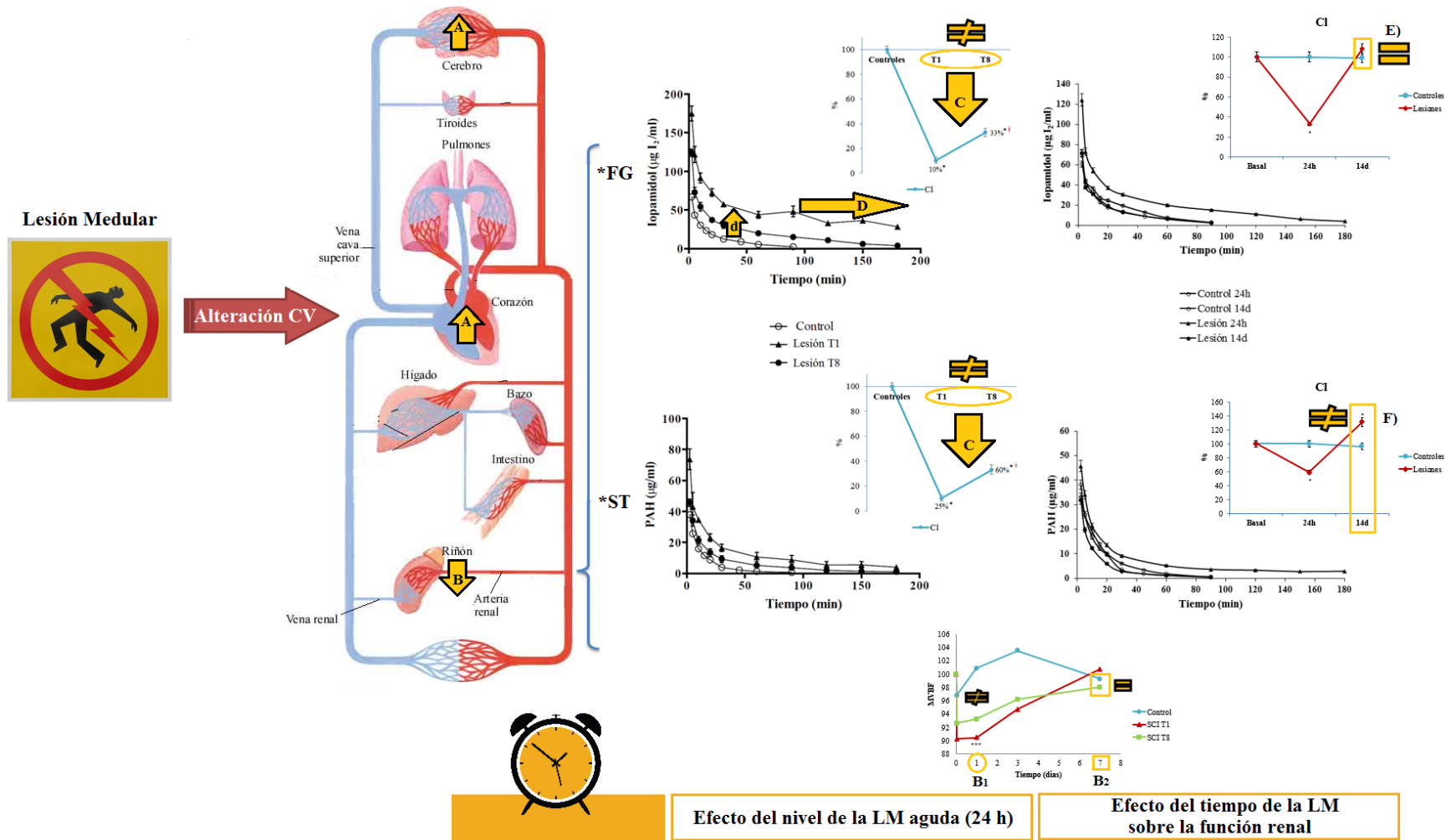


Fig. 35. Diagrama del mecanismo propuesto por el cual se altera la función renal en presencia de una lesión medular.

#### 7.4. Implicaciones del estudio

Ya que el riñón es el órgano responsable de la excreción de una gran cantidad de fármacos, la detección temprana de la disfunción renal juega un papel sumamente importante en el éxito de la farmacoterapia de los pacientes lesionados. A pesar de que la TFG es el parámetro más ampliamente aceptado para la evaluación de la función renal, se requieren de marcadores y mediciones precisas para lograr este propósito en pacientes lesionados y así ayudar a la óptima toma de decisiones. Además, debe tomarse en cuenta que existen tres mecanismos responsables de la regulación del medio interno en el organismo: FG, ST y reabsorción. En el presente estudio, el iopamidol en conjunto con el PAH, se propusieron como marcadores para la evaluación de la función renal tras una lesión medular, resultando buenos indicadores.

Los resultados encontrados sugieren que tanto el proceso de FG como el de ST se encuentran disminuidos después de una LM. Aunque el cambio en la TFG es más pronunciado, es importante tener en cuenta que la ST también se altera. En especial cuando la lesión ocurre a un nivel alto (T1), donde los cambios demostraron ser aún más dramáticos que a un nivel bajo (T8). Asimismo, los resultados indican que las alteraciones en la función renal son temporales, ya que tras un periodo de 14 días, la TFG logra retornar a sus valores basales. Sin embargo, como consecuencia de dicho “reajuste”, se presenta un aumento en el proceso de ST, el cual parece ser un mecanismo compensatorio para alcanzar nuevamente el equilibrio homeostático dentro del organismo tras una LM.

Una de las implicaciones terapéuticas de estos hallazgos es que los cambios en la función renal que se producen tras una lesión aguda (24 h), pueden tener un efecto reductor en la depuración de fármacos que son eliminados por vía renal, ya sea por FG o por ST, resultando en un aumento en el tiempo de residencia de los fármacos en el organismo, lo cual podría llevar a toxicidad debida al fármaco.



Esto podría ser de especial interés para los médicos que tratan a pacientes lesionados, sobre todo a aquellos que llegan a urgencias tras haber sufrido dicho trauma, ya que es durante esta etapa cuando se sufren las consecuencias más dramáticas, las cuales deberían tomarse en cuenta a la hora de prescribir cualquier tipo de medicamentos, principalmente aquellos que son eliminados por vía renal y en especial por FG. De la misma forma, se debe prestar especial atención al nivel de la lesión del paciente, ya que los que sufren lesiones cervicales o altas, se encuentran expuestos a los cambios más drásticos en ambos procesos: FG y ST.

Los resultados aquí presentes parecen indicar que la LM resulta en una disminución significativa en el proceso de FG debido a las fallas hemodinámicas presentes y que la ST actúa como mecanismo compensatorio para la regulación del medio interno, incluso tras varios días después de ocurrida la lesión. Dichos resultados ayudan a la comprensión de los mecanismos básicos involucrados en los cambios renales que se producen después de una lesión medular.

Lo anterior podría servir como base para una farmacoterapia exitosa en esta población especial, además de ofrecer un marco para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento farmacológico, teniendo en cuenta tanto las características farmacológicas del fármaco, como las de la lesión, tales como el nivel y el tiempo transcurrido después de la misma; todo esto con el fin de proponer regímenes de dosificación más apropiados para esta población de pacientes; en otras palabras, determinar si se requiere o no un ajuste de dosis, el tiempo al cual debe iniciarse el tratamiento, así como la duración del mismo y la posible terapia de combinación.

Dado que la eficacia y seguridad de los tratamientos farmacológicos dependen entre otros factores, de la función renal, su evaluación clínica es vital para el manejo adecuado de pacientes lesionados. Por lo tanto, cabe resaltar que la estrecha vigilancia de la función renal en pacientes con LM es de vital importancia no solo para detectar la aparición temprana de insuficiencia renal, sino para evitar la nefrotoxicidad secundaria causada por fármacos como los aminoglucósidos, que se administran frecuentemente y también para ajustar adecuadamente la dosis de los medicamentos eliminados principalmente por FG. Esto se puede hacer con base en el tiempo de vida media del fármaco, el cual nos permite establecer el intervalo de dosificación.

## 8. CONCLUSIONES.

- ⇒ El método cromatográfico descrito para la separación y cuantificación simultánea de iopamidol y PAH en plasma de ratas, cumple con los criterios de validación establecidos en la NOM-177-SSA1-2013, lo cual lo hace un método confiable, preciso y seguro para ser utilizado en estudios farmacocinéticos.
- ⇒ El uso de este método se propone como alternativa viable para la estimación simultánea de la filtración glomerular y la secreción tubular por medio de la depuración de iopamidol y del PAH, respectivamente, tanto en individuos sanos como en pacientes lesionados, ya que no requiere de la recolección de orina, ni es dependiente de la masa muscular. Además de ser un procedimiento sencillo y económico.
- ⇒ La Lesión Medular produce una alteración en el proceso de eliminación renal que se refleja en cambios en la cinética de iopamidol y del PAH. Dichos cambios, se presentan en mayor o menor grado de acuerdo al nivel y al tiempo de la lesión.
- ⇒ La depuración de ambos fármacos se vio significativamente disminuida tras una lesión a nivel torácico 8 (T8), sin embargo, estos cambios fueron aún más pronunciados a un nivel más alto (T1).
- ⇒ El proceso de filtración glomerular se vio afectado en ambos niveles tras una lesión aguda; sin embargo, los cambios fueron temporales, ya que hubo una recuperación en la depuración del iopamidol a los 14 días de inducida la lesión.
- ⇒ La lesión aguda disminuyó de manera significativa el proceso de ST en ambos niveles de la lesión; sin embargo, a los 14 días, este aumentó significativamente.

## 9. PERSPECTIVAS DEL ESTUDIO

Dado que la eliminación renal de un fármaco depende tanto de su FG como de su ST, el análisis de los datos de manera paralela de ambas funciones resultaría benéfico para la interpretación detallada de los resultados encontrados, así como para corroborar el mecanismo aquí planteado; por lo que se sugiere el uso de herramientas como el análisis poblacional, el cual permitiría analizar la función renal examinando como covariables el FMVS renal, el peso de las ratas, la pérdida de peso después de la LM, así como la depuración tanto de iopamidol como del PAH para determinar si existe o no una interacción directa entre ambos procesos (FG y ST).

Lo anterior podría ayudar a plantear un modelo matemático que nos permita predecir la función renal en función al tiempo y al nivel de la lesión, y a la larga, contribuir al establecimiento de estrategias más racionales en la administración de fármacos en pacientes con lesión medular.

**10. BIBLIOGRAFÍA.**

- ☞ Agarwal, R. (1998). Chromatographic estimation of iothalamate and p-aminohippuric acid to measure glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in humans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 705(1), 3-9.
- ☞ Aisen, M. L., Dietz, M. A., Rossi, P., Cedarbaum, J. M. y Kutt, H. (1992). Clinical and pharmacokinetic aspects of high dose oral baclofen therapy. *J Am Paraplegia Soc.* 15(4), 211-216.
- ☞ Allen, A. R. (1911). Surgery of experimental lesions of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. *J. Am. Med. Assoc.* 57, 878-880.
- ☞ Arvidsson, A. y Hedman, A. (1990). Plasma and renal clearance of iohexol--a study on the reproducibility of a method for the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest.* 50(7), 757-761.
- ☞ Atkinson, P. P. y Atkinson, J. L. (1996). Spinal shock. *Mayo Clin Proc.* 71(4), 384-389.
- ☞ Baker, J. T. (1974). Relationship between glucose and sodium excretion in the newborn dog. *J. Physiol.* 243, 45-61.
- ☞ Barba Evia, Jose Roberto. (2008). Marcadores de indice de filtracion glomerular: Cistatina C. *Rev Mex Patol Clin.* 55, 149-156.
- ☞ Bastien, O., Piriou, V., Aouifi, A., Flamens, C., Evans, R. y Lehot, J. J. (2000). Relative importance of flow versus pressure in splanchnic perfusion during cardiopulmonary bypass in rabbits. *Anesthesiology.* 92(2), 457-464.
- ☞ Bauman, W. A. y Spungen, A. M. (2000). Metabolic changes in persons after spinal cord injury. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 11(1), 109-140.
- ☞ Bolignano, D., Mattace-Raso, F., Sijbrands, E. J. y Zoccali, C. (2014). The aging kidney revisited: a systematic review. *Ageing Res Rev.* 14, 65-80.
- ☞ Bonaplast, S.A. de C.V. (Producer). (2012). Monografía Solucont<sup>R</sup> (Iopamidol) Medio de Contraste Radiológico. [Documento tecnico] Retrieved from <http://www.bonarum.com/images/library/file/PDFproductos/Librillo-Solucont.pdf>
- ☞ Bonate, P. L., Reith, K. y Weir, S. (1998). Drug interactions at the renal level. Implications for drug development. *Clin Pharmacokinet.* 34(5), 375-404.

- ♣ Bourin, M., Jolliet, P. y Ballereau, F. (1997). An overview of the clinical pharmacokinetics of x-ray contrast media. *Clin Pharmacokinet.* 32(3), 180-193.
- ♣ Bravo, G., Guízar-Sahagún, G., Ibarra, A., Centurion, D. y Villalon, C. M. (2004). Cardiovascular alterations after spinal cord injury: an overview. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents.* 2(2), 133-148.
- ♣ Brown, S. C. y O'Reilly, P. H. (1991). Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate in clinical practice: evidence for a new gold standard. *J Urol.* 146(3), 675-679.
- ♣ Brunnemann, S. R. y Segal, J. L. (1991). Amikacin serum protein binding in spinal cord injury. *Life Sci.* 49(2), PL1-5.
- ♣ Bunten, D. C., Warner, A. L., Brunnemann, S. R. y Segal, J. L. (1998). Heart rate variability is altered following spinal cord injury. *Clin Auton Res.* 8(6), 329-334.
- ♣ Center, National SCI Statistical. (2014). *Spinal Cord Injury Facts and Figures at a Glance*. Retrieved from:  
[https://www.nscisc.uab.edu/PublicDocuments/fact\\_figures\\_docs/Facts%202014.pdf](https://www.nscisc.uab.edu/PublicDocuments/fact_figures_docs/Facts%202014.pdf)
- ♣ Chikkalingaiah, K. B., Grant, N. D., Mangold, T. M., Cooke, C. R. y Wall, B. M. (2010). Performance of simplified modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in patients with chronic spinal cord injury and chronic kidney disease. *Am J Med Sci.* 339(2), 108-116.
- ♣ Cruse, J. M., Keith, J. C., Bryant, M. L., Jr. y Lewis, R. E., Jr. (1996). Immune system-neuroendocrine dysregulation in spinal cord injury. *Immunol Res.* 15(4), 306-314.
- ♣ Cruz-Antonio, L., Flores-Murrieta, F. J., García-López, P., Guízar-Sahagún, G. y Castañeda-Hernández, G. (2006). Understanding drug disposition alterations induced by acute spinal cord injury: role of injury level and route of administration for agents submitted to extensive liver metabolism. *J Neurotrauma.* 23(1), 75-85.
- ♣ Das, G. D. (1989). Perspectives in anatomy and pathology of paraplegia in experimental animals. *Brain Res Bul.* 22(1), 7-32.
- ♣ Dowling, T. C., Frye, R. F. y Zemaitis, M. A. (1998). Simultaneous determination of p-aminohippuric acid, acetyl-p-aminohippuric acid and iothalamate in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 716(1-2), 305-313.

- ⌘ Eaton, Douglas C. y Pooler, John P. (2013). *Vander's Renal Physiology*. (M.-H. Education Ed. 8th ed.).
- ⌘ Farthing, D., Sica, D. A., Fakhry, I., Larus, T., Ghosh, S., Farthing, C., . . . Gehr, T. (2005). Simple HPLC-UV method for determination of iohexol, iothalamate, p-aminohippuric acid and n-acetyl-p-aminohippuric acid in human plasma and urine with ERPF, GFR and ERPF/GFR ratio determination using colorimetric analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 826(1-2), 267-272.
- ⌘ Fehlings, M. G., Cadotte, D. W. y Fehlings, L. N. (2011). A series of systematic reviews on the treatment of acute spinal cord injury: a foundation for best medical practice. *J Neurotrauma.* 28(8), 1329-1333.
- ⌘ Frennby, B. y Sterner, G. (2002). Contrast media as markers of GFR. *Eur Radiol.* 12(2), 475-484.
- ⌘ Fuentes-Lara, G., Guízar-Sahagún , G. y García-López, P. (1999). Effect of experimental spinal cord injury on salicylate bioavailability after oral aspirin administration. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 42(2), 93-97.
- ⌘ Gabel, R. A., Ranaei, R. A. y Kivlighn, S. D. (1996). A new method of measuring renal function in conscious rats without the use of radioisotopes. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 36(4), 189-197.
- ⌘ Gale, K., Kerasidis, H. y Wrathall, J. R. (1985). Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Exp Neurol.* 88(1), 123-134.
- ⌘ García-López, P., Martínez-Cruz, A., Guízar-Sahagún , G. y Castañeda-Hernández,, G. (2007). Acute spinal cord injury changes the disposition of some, but not all drugs given intravenously. *Spinal Cord.* 45(9), 603-608.
- ⌘ García-López, P., Pérez-Urizar, J., Ibarra, A., Grijalva, I., Madrazo, I., Flores-Murrieta, F., Castañeda-Hernández G. y Guízar-Sahagún G. (1996). Comparison between Sprague-Dawley and Wistar rats as an experimental model of pharmacokinetic alterations induced by spinal cord injury. *Arch Med Res.* 27(4), 453-457.
- ⌘ García-López, P. y Salas, R. (1999). Bioavailability of diclofenac after intramuscular administration to rats with experimental spinal cord injury. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 42(2), 99-101.

- ⌚ Gaspari, F., Perico, N., Ruggenti, P., Mosconi, L., Amuchastegui, C. S., Guerini, E., Daina E. y Remuzzi, G. (1995). Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol.* 6(2), 257-263.
- ⌚ Gibaldi, M. (1991). *Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics* (L. Febiger Ed. 4th ed.). Philadelphia.
- ⌚ Gilman, T. M., Brunnemann, S. R. y Segal, J. L. (1993). Comparison of population pharmacokinetic models for gentamicin in spinal cord-injured and able-bodied patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 37(1), 93-99.
- ⌚ Gilman, T. M., Segal, J. L. y Brunnemann, S. R. (1996). Metoclopramide increases the bioavailability of dantrolene in spinal cord injury. *J Clin Pharmacol.* 36(1), 64-71.
- ⌚ Gris, D., Hamilton, E. F. y Weaver, L. C. (2008). The systemic inflammatory response after spinal cord injury damages lungs and kidneys. *Exp Neurol.* 211(1), 259-270.
- ⌚ Guha, A. y Tator, C. H. (1988). Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma.* 28(4), 481-490.
- ⌚ Guízar-Sahagún , G., Castañeda-Hernández,, G., García-López, P., Franco-Bourland, R., Grijalva, I. y Madrazo, I. (1998). Pathophysiological mechanisms involved in systemic and metabolic alterations secondary to spinal cord injury. *Proc West Pharmacol Soc.* 41, 237-240.
- ⌚ Guízar-Sahagún , G., Grijalva, I., Madrazo, I., Franco-Bourland, R., Salgado-Ceballos, H., Ibarra, A. y Larriva-Sahd, J. (1994). Neuroprotection of completely lacerated spinal cord of adult rats by homotopic and heterotopic transplantation. *Restor Neurol Neurosci.* 7(2), 61-70.
- ⌚ Guízar-Sahagún , G., Velasco-Hernandez, L., Martínez-Cruz, A., Castañeda-Hernández,, G., Bravo, G., Rojas, G. y Hong, E. (2004). Systemic microcirculation after complete high and low thoracic spinal cord section in rats. *J Neurotrauma.* 21(11), 1614-1623.
- ⌚ Guyton, Arthur C. y Hall, John E. (2006). *Tratado de Fisiología Médica* (Elsevier Ed. 11 ed.).
- ⌚ Haberle, D. A., Ruhland, G., Lausser, A., Moore, L. y Neiss, A. (1978). Influence of glomerular filtration rate on renal PAH secretion rate in the rat kidney. Dependency of PAH extraction on renal filtration fraction. *Pflugers Arch.* 375(2), 131-139.



- ⌚ Hall, E. D. y Springer, J. E. (2004). Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx*. 1(1), 80-100.
- ⌚ Harapanhalli, R. S., Yaghmai, V., Patel, Y. D., Baker, S. R. y Rao, D. V. (1993). Assay of radiographic contrast agents in mice plasma and testes by high-performance liquid chromatography. *Anal Chem*. 65(5), 606-612.
- ⌚ Hayes, K. C., Potter, P. J., Hsieh, J. T., Katz, M. A., Blight, A. R. y Cohen, R. (2004). Pharmacokinetics and safety of multiple oral doses of sustained-release 4-aminopyridine (Fampridine-SR) in subjects with chronic, incomplete spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 85(1), 29-34.
- ⌚ Hidayat, L. K., Hsu, D. I., Quist, R., Shriner, K. A. y Wong-Beringer, A. (2006). High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: efficacy and toxicity. *Arch Intern Med*. 166(19), 2138-2144.
- ⌚ Hijazi, Y., Bodonian, C., Bolon, M., Salord, F. y Boulieu, R. (2003). Pharmacokinetics and haemodynamics of ketamine in intensive care patients with brain or spinal cord injury. *Br J Anaesth*. 90(2), 155-160.
- ⌚ Hildebrand, L. B., Krejci, V., Banic, A., Erni, D., Wheatley, A. M. y Sigurdsson, G. H. (2000). Dynamic study of the distribution of microcirculatory blood flow in multiple splanchnic organs in septic shock. *Crit Care Med*. 28(9), 3233-3241.
- ⌚ Hulsebosch, C. E. (2002). Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. *Adv Physiol Educ*. 26(1-4), 238-255.
- ⌚ Ibarra, A., Guízar-Sahagún, G., Correa, D., Kretschmer, R., Grijalva, I., Flores-Murrieta, F. J., Castañeda-Hernández G., Odor A., López R. M., Franco-Bourland R., Espitia A. L., Salgado-Ceballos H. y Madrazo, I. (1996). Alteration of cyclosporin-A pharmacokinetics after experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 13(5), 267-272.
- ⌚ INEGI. (2010). *Censo de Población y Vivienda 2010. Población con Discapacidad en México* Retrieved from:  
<http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/discapacidad.aspx?tema=P>
- ⌚ Inscho, E. W. (2001). P2 receptors in regulation of renal microvascular function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 280(6), F927-944.
- ⌚ Kahlmeter, G. y Dahlager, J. I. (1984). Aminoglycoside toxicity - a review of clinical studies published between 1975 and 1982. *J Antimicrob Chemother*. 13 Suppl A, 9-22.

- ♣ Kawada, T. K. (1985). Iohexol and iopamidol: second-generation nonionic radiographic contrast media. *Drug Intell Clin Pharm.* 19(7-8), 525-529.
- ♣ Kirshblum, S. C., Burns, S. P., Biering-Sorensen, F., Donovan, W., Graves, D. E., Jha, A., Johansen M., Jones L., Krassioukov A., Mulcahey M. J., Schmidt-Read M. y Waring, W. (2011). International standards for neurological classification of spinal cord injury (revised 2011). *J Spinal Cord Med.* 34(6), 535-546.
- ♣ Klingensmith, W. C., 3rd, Lammertse, D. P., Briggs, D. E., Smith, W. I., Roberts, J. F., Froelich, J. W. y Sutherland, J. D. (1996). Technetium-99m-MAG3 renal studies in spinal cord injury patients: normal range, reproducibility, and change as a function of duration and level of injury. *Spinal Cord.* 34(6), 338-345.
- ♣ Krassioukov, A. y Claydon, V. E. (2006). The clinical problems in cardiovascular control following spinal cord injury: an overview. *Prog Brain Res.* 152, 223-229.
- ♣ Kurtzman, N. A., White, M. G., Rogers O. W., Flynn III, J. J. (1972). Relationship of sodium reabsorption and glomerular filtration rate to renal glucose reabsorption. *J. Clin. Invest.* 51, 127-133.
- ♣ Kwo, S., Young, W. y Decrescito, V. (1989). Spinal cord sodium, potassium, calcium, and water concentration changes in rats after graded contusion injury. *J Neurotrauma.* 6(1), 13-24.
- ♣ Kwon, B. K., Tetzlaff, W., Grauer, J. N., Beiner, J. y Vaccaro, A. R. (2004). Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J.* 4(4), 451-464.
- ♣ Laroute, V., Lefebvre, H. P., Costes, G. y Toutain, P. L. (1999). Measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in the conscious beagle dog by single intravenous bolus of iohexol and p-aminohippuric acid. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 41(1), 17-25.
- ♣ Lavezo, L. A. y Davis, R. L. (1995). Vancomycin pharmacokinetics in spinal cord injured patients: a comparison with age-matched, able-bodied controls. *J Spinal Cord Med.* 18(4), 233-235.
- ♣ Lee, J. P. y Dang, A. T. (2011). Evaluation of methods to estimate glomerular filtration rate versus actual drug clearance in patients with chronic spinal cord injury. *Spinal Cord.* 49(12), 1158-1163.
- ♣ Lindeman, R. D., Tobin, J. y Shock, N. W. (1985). Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc.* 33(4), 278-285.

- ⌚ MacDiarmid, S. A., McIntyre, W. J., Anthony, A., Bailey, R. R., Turner, J. G. y Arnold, E. P. (2000). Monitoring of renal function in patients with spinal cord injury. *BJU Int.* 85(9), 1014-1018.
- ⌚ Marsilio, R., Dall'Amico, R., Montini, G., Murer, L., Ros, M., Zacchello, G. y Zacchello, F. (1997). Rapid determination of p-aminohippuric acid in serum and urine by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 704(1-2), 359-364.
- ⌚ Masereeuw, R. y Russel, F. G. (2001). Mechanisms and clinical implications of renal drug excretion. *Drug Metab Rev.* 33(3-4), 299-351.
- ⌚ Masereeuw, R. y Russel, F. G. (2010). Therapeutic implications of renal anionic drug transporters. *Pharmacol Ther.* 126(2), 200-216.
- ⌚ Mavrin, M. I. (1976). Role of the splanchnic nerves in regulation of maximal glucose transport in the kidneys. *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny.* 82, 778-780.
- ⌚ McDonald, J. W. y Sadowsky, C. (2002). Spinal-cord injury. *Lancet*, 359(9304), 417-425.
- ⌚ Media, Nucleus Medical. (2009). Anatomía del riñón. 2015, from <http://www.nucleuscatalog.com/anatom%C3%ADa-del-ri%C3%B1%C3%B3n/view-item?ItemID=28117>
- ⌚ Mestre, H., Alkon, T., Salazar, S. y Ibarra, A. (2011). Spinal cord injury sequelae alter drug pharmacokinetics: an overview. *Spinal Cord.* 49(9), 955-960.
- ⌚ Metzler, C. M. y Gabrielsson, J. L. (1995). *WinNonLin. User Guide.* Professional Data Analysis Scientific Consulting Inc.
- ⌚ Mirahmadi, M. K., Byrne, C., Barton, C., Pendera, N., Gordon, S. y Vaziri, N. D. (1983). Prediction of creatinine clearance from serum creatinine in spinal cord injury patients. *Paraplegia.* 21(1), 23-29.
- ⌚ Miranda, A. R. y Hassouna, H. I. (2000). Mechanisms of thrombosis in spinal cord injury. *Hematol Oncol Clin North Am.* 14(2), 401-416.
- ⌚ Mohler, J. L., Barton, S. D., Blouin, R. A., Cowen, D. L. y Flanigan, R. C. (1986). The evaluation of creatinine clearance in spinal cord injury patients. *J Urol.* 136(2), 366-369.

- ☞ Mohler, J. L., Ellison, M. F. y Flanigan, R. C. (1988). Creatinine clearance prediction in spinal cord injury patients: comparison of 6 prediction equations. *J Urol.* 139(4), 706-709.
- ☞ Nilsson-Ehle, P. y Grubb, A. (1994). New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl.* 47, S17-19.
- ☞ Nockels, R. P. (2001). Nonoperative management of acute spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976).* 26(24 Suppl), S31-37.
- ☞ OMS. (2013). Lesiones Medulares. Retrieved Septiembre 2015, from [http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs384/es/#](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs384/es/)
- ☞ Pallone, T. L., Silldorff, E. P. y Turner, M. R. (1998). Intrarenal blood flow: microvascular anatomy and the regulation of medullary perfusion. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 25(6), 383-392.
- ☞ Reihani-Kermani, H., Ansari, M. y Karamousian, S. (2006). The influence of experimental spinal cord injury on carbamazepine pharmacokinetics. *Arch Iran Med.* 9(3), 231-235.
- ☞ Reyes, J. L., Meléndez, E., Alegria, A. y Jaramillo-Juárez, F. (1998). Influence of sex differences on the renal secretion of organic anions. *Endocrinology.* 139(4), 1581-1587.
- ☞ Rocco, M. V., Buckalew, V. M., Jr., Moore, L. C. y Shihabi, Z. K. (1996). Capillary electrophoresis for the determination of glomerular filtration rate using nonradioactive iohexol. *Am J Kidney Dis.* 28(2), 173-177.
- ☞ Rodríguez-Romero, V., Cruz-Antonio, L., Franco-Bourland, R. E., Guízar-Sahagún, G. y Castañeda-Hernández, G. (2013). Changes in renal function during acute spinal cord injury: implications for pharmacotherapy. *Spinal Cord.* 51(7), 528-531.
- ☞ Rodríguez-Romero, V., Gonzalez-Villalva, K. I., Reyes, J. L., Franco-Bourland, R. E., Guízar-Sahagún, G., Castañeda-Hernández, G. y Cruz-Antonio, L. (2015). A novel, simple and inexpensive procedure for the simultaneous determination of iopamidol and p-aminohippuric acid for renal function assessment from plasma samples in awake rats. *J Pharm Biomed Anal.* 107, 196-203.
- ☞ Ronnhedh, C., Jaquenod, M. y Mather, L. E. (1996). Urineless estimation of glomerular filtration rate and renal plasma flow in the rat. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 36(3), 123-129.

- ⌚ Rosenzweig, E. S. y McDonald, J. W. (2004). Rodent models for treatment of spinal cord injury: research trends and progress toward useful repair. *Curr Opin Neurol.* 17(2), 121-131.
- ⌚ Russell, C. D. y Dubovsky, E. V. (1989). Measurement of renal function with radionuclides. *J Nucl Med.* 30(12), 2053-2057.
- ⌚ Rybak, M., Lomaestro, B., Rotschafer, J. C., Moellering, R., Jr., Craig, W., Billeter, M., Dalovisio J. R. y Levine, D. P. (2009). Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm.* 66(1), 82-98.
- ⌚ Sawyer, W. T. y Hutchins, K. (1982). Assessment and predictability of renal function in spinal cord injury patients. *Urology.* 19(4), 377-380.
- ⌚ Segal, J. L. y Brunnemann, S. R. (1989). Clinical pharmacokinetics in patients with spinal cord injuries. *Clin Pharmacokinet.* 17(2), 109-129.
- ⌚ Segal, J. L., Brunnemann, S. R., Eltorai, I. M. y Vulpe, M. (1991). Decreased systemic clearance of lorazepam in humans with spinal cord injury. *J Clin Pharmacol.* 31(7), 651-656.
- ⌚ Segal, J. L., Maltby, B. F., Langdorf, M. I., Jacobson, R., Brunnemann, S. R. y Jusko, W. J. (1998). Methylprednisolone disposition kinetics in patients with acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy.* 18(1), 16-22.
- ⌚ Seifert, J., Lob, G., Probst, J. y Brendel, W. (1979). Microcirculation and blood volume in rats before and after spinal cord injury. *Paraplegia.* 17(4), 436-441.
- ⌚ Seneviratne, A. K., Jayewardene, A. L. y Gambertoglio, J. G. (1994). Paired ion reversed-phase HPLC assay for the determination of iothalamic acid and para aminohippuric acid in urine. *J Pharm Biomed Anal.* 12(10), 1311-1316.
- ⌚ Shchurova, E. N., Stogov, M. V. y Dyachkova, G. V. (2015). [EVALUATION OF RENAL FUNCTION IN PATIENTS WITH SPINAL CORD INJURY]. *Urologiia.* (1), 24-29.
- ⌚ Shuman, S. L., Bresnahan, J. C. y Beattie, M. S. (1997). Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res.* 50(5), 798-808.
- ⌚ Silver, J. R. y Doggart, J. R. (2004). Reduced sodium output following acute spinal injury. *Spinal Cord.* 42(3), 191-198.

- ☞ Silver, J. R., Doggart, J. R. y Burr, R. G. (1995). The reduced urinary output after spinal cord injury: a review. *Paraplegia*. 33(12), 721-725.
- ☞ Sladen, R. N. y Landry, D. (2000). Renal blood flow regulation, autoregulation, and vasomotor nephropathy. *Anesthesiol Clin North America*. 18(4), 791-807, ix.
- ☞ Steeves, John D., Fawcett, James W., Tuszynski, Mark H., Lammertse, Daniel, Curt, Armin E.P., Ditunno, John F. y Rask, Cynthia. (2007). Tratamientos experimentales para lesiones en la médula espinal. In I. C. f. C. o. s. c. i. Paralysis (Ed.), (pp. 25-30).
- ☞ Stevens, L. A. y Levey, A. S. (2009). Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol*. 20(11), 2305-2313.
- ☞ Strassburguer-Lona, Karla, Hernandez-Porras, Yolanda y Barquin-Santos, Eva. (*Lesión Medular: Guía para el manejo integral del paciente con LM crónica* Vol. 4. A. Madrid (Ed.) (pp. 161). Retrieved from:  
[http://www.isfie.org/documentos/guia\\_practica\\_lm.pdf](http://www.isfie.org/documentos/guia_practica_lm.pdf)
- ☞ Szalay, L., Bencsath, P. y Takacs, L. (1977). Effect of splanchnicotomy on the renal excretion of d-glucose in the anaesthetized dog. *Pflugers Arch*. 369(1), 79-84.
- ☞ Taoka, Y. y Okajima, K. (1998). Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol*. 56(3), 341-358.
- ☞ Tator, C. H. y Fehlings, M. G. (1991). Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*. 75(1), 15-26.
- ☞ Teasell, R. W., Arnold, J. M., Krassioukov, A. y Delaney, G. A. (2000). Cardiovascular consequences of loss of supraspinal control of the sympathetic nervous system after spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 81(4), 506-516.
- ☞ Thomassen, S. A., Johannesen, I. L., Erlandsen, E. J., Abrahamsen, J. y Randers, E. (2002). Serum cystatin C as a marker of the renal function in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord*. 40(10), 524-528.
- ☞ Thompson D. D., Barrett M. J., Pitts R. F. (1951). Significance of glomerular perfusion in relation to variability of filtration rate. *Am J Physiol*. 167(2), 546-552.
- ☞ Thomsen, H. S., Vestergaard, A., Nielsen, S. L., Fogh-Andersen, N., Golman, K. y Dorph, S. (1991). Renal clearance of an ionic high-osmolar and a nonionic low-osmolar contrast medium. *Invest Radiol*. 26(6), 564-568.
- ☞ Tietze, K. J. y Putcha, L. (1994). Factors affecting drug bioavailability in space. *J Clin Pharmacol*. 34(6), 671-676.

- ♻ Tortora, Gerard J. y Derrickson, Bryan. (2009). *Principios de Anatomía y Fisiología* (E. M. Panamericana Ed. 11 ed.).
- ♻ Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C. C. y Fox, J. G. (2006). How to measure renal function in clinical practice. *BMJ*. 333(7571), 733-737.
- ♻ Van Liew, J. B., Deetjen, P., Boylan, J. W. (1967). Glucose reabsorption in the rat kidney. *Pflugers Arch ges Physiol*. 295, 232-244.
- ♻ Von Hendy-Willson, V. E. y Pressler, B. M. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *Vet J*. 188(2), 156-165.
- ♻ Webb, A. A., Ngan, S. y Fowler, J. D. (2010). Spinal cord injury I: A synopsis of the basic science. *Can Vet J*. 51(5), 485-492.
- ♻ Young, F. y Ensom, M. H. (2011). Pharmacokinetics of aminoglycosides in patients with chronic spinal cord injury. *Am J Health Syst Pharm*. 68(17), 1607-1614.

**ANEXOS.**

**A. Diagrama de las vías autonómicas eferentes.** Las neuronas preganglionares se muestran en líneas sólidas y las neuronas postganglionares como líneas punteadas. Las líneas gruesas son fibras parasimpáticas, mientras que las delgadas son simpáticas (Modificado de Guyton, 2001).

