

UNIVERSIDAD DE GRANADA. FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

MODIFICACIONES DE LA FIJACION
DE FARMACOS A PROTEINAS PLAS-
MATICAS EN LA EDAD PERINATAL

TESIS DOCTORAL

Jorge-Carlos Muñoz Beltrán

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

Curso de 19 89 a 19 90

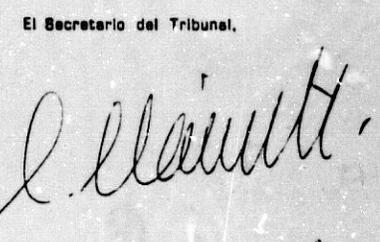
Folio 63^{va}

Número 127

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Jose Carlos Muñoz Beltrán, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente había elegido: "Modificaciones de la hipocretina de perinatos a gestaciones prematuras en la edad perinatal".

Terminada la lectura y contestadas la objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este le calificó de APTO CON LAUDE POR UNANIMIDAD
Granada 11 de Octubre de 19 89.

EL PRESIDENTE,


El Secretario del Tribunal,


Fdo.: JOSE JIMENEZ MARTIN

Fdo.: Luis Navarrete Lopez-Corral

EL VOCAL.


EL VOCAL.


EL VOCAL.


Fdo.: Ramundo Subiza

Fdo.: Aurelio Gonzalez

Fdo.: Antonio Fariña

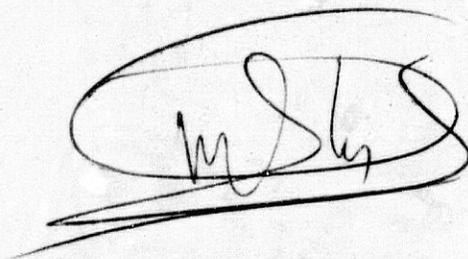
FIRMA DEL GRADUANDO.



D. MANUEL GARCIA MORILLAS, CATEDRATICO DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA : Que D. Jorge-Carlos Muñoz Beltrán, Licenciado en Medicina , ha realizado bajo mi dirección los estudios correspondientes a su Tesis doctoral " Modificaciones de la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas en la edad perinatal " .

Y para que conste , expido la presente certificación en Granada, a treinta de Julio de mil novecientos ochenta y nueve.

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'M. García Morillas', enclosed within a large, loopy oval flourish.

Fdo. Dr. García Morillas

Dña. AMALIA JIMENEZ GARCIA , DOCTORA EN MEDICINA Y
MEDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE OBSTETRICIA Y GINECO-
LOGIA DEL HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO DE GRANADA.

CERTIFICA : Que D. Jorge-Carlos Muñoz Beltrán,
Licenciado en Medicina , ha realizado bajo mi direc-
ción los estudios correspondientes a su Tesis docto-
ral " Modificaciones de la fijación de fármacos a
proteínas plasmáticas en la edad perinatal " .

Y para que conste , expido la presente certifica-
ción en Granada, a treinta de Julio de mil novecien-
tos ochenta y nueve.



Fdo. Dra. Jiménez García

A Mari Carmen,
Laura y Leticia

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincera gratitud a los profesores D. Manuel García Morillas y Dña. Amalia Jiménez García por su certera dirección de este trabajo y por haberme iniciado en las tareas de investigación.

Al Dr. D. Luis Navarrete por su colaboración y espíritu crítico.

A mi hermano Humberto por su apoyo constante y su inestimable ayuda en la recogida y selección de las muestras y del material bibliográfico.

A mis compañeros del Instituto de Formación Profesional de Baza, Cristóbal Giménez y Ana María Linares, y del Departamento de Farmacología, Manuel Barrios, por su ayuda en el tratamiento estadístico e informático que sustenta este trabajo.

A mis padres, a quienes todo lo debo.

ABREVIATURAS

Ac.Gr.Lib. :	Acidos grasos libres
ADP :	Difosfato de adenosina
A.G.L. :	Acidos grasos libres
Album. :	Albúmina
ATP :	Trifosfato de adenosina
Coc. A/G :	Cociente Albúmina / Globulinas
CPK :	Creatinfosfoquinasa
C.P.M. :	Cuentas por minuto
Desv. T. :	Desviación Típica o Standard
Dx. L. :	Digitoxina libre
Dx.U./A. :	Moles de digitoxina unidos por mol de albúmina
Dz. L. :	Diacepán libre
Dz.U./A. :	Moles de diacepán unidos por mol de albúmina
Error St. :	Error standard de la media
Fig. :	Figura
Gest. :	Gestacional
i.m. :	Intramuscular
L.C.R. :	Líquido cefalorraquídeo
liq. :	Líquido
log. :	Logaritmo decimal
M.A.O. :	Monoaminoxidasa
m'n. :	Minuto
NADPH ₂ :	Nicotinamida-adenín-dinucleótido-fosfato reducido
pK :	Logaritmo negativo de la constante de disociación de ácidos y bases

pH :	Logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones
Pm :	Peso molecular
Proc. Tot. :	Proteínas totales
R. N. :	Recién nacido
r.p.m. :	Revoluciones por minuto
s. c. :	Subcutáneo
Sem. :	Semana
S. L. :	Sulfisoxazol Libre
S.N.C. :	Sistema nervioso central
S.U./A. :	Moles de sulfisoxazol unidos por mol de albúmina
Vd :	Volumen aparente de distribución
vgr. :	Verbigracia

Estadísticos

Error α :	Error que puede cometerse al aceptar la significación en un test de hipótesis
F α :	Valor teórico de la distribución F de Snedecor con un error de significación α
F _{exp} :	Valor experimental de la distribución F de Snedecor
g. l. :	Grados de libertad
H ₀ :	Hipótesis nula de un test estadístico
H ₁ :	Hipótesis alternativa de un test estadístico
n :	Tamaño de una muestra
n. s. :	No significativo

P :	Valor de significación en un test estadístico
r :	Coefficiente de correlación lineal
S :	Desviación típica o standard de los valores de una variable aleatoria en una muestra de la población
S ² :	Varianza de los valores de una variable aleatoria en una muestra de la población
σ :	Desviación típica o standard de los valores de una variable aleatoria en una población.
σ ² :	Varianza de los valores de una variable aleatoria en una población
S \bar{x} :	Error standard de la media
t α :	Valor teórico de la distribución t de Student con un error de significación α
t _{exp} :	Valor experimental de la distribución t de Student
\bar{X} :	Media aritmética de los valores de una variable aleatoria en una muestra de la población
μ :	Media aritmética de los valores de una variable aleatoria en una población
X _i :	Valores que la variable aleatoria toma en cada elemento de la muestra

Fórmulas :

C ¹⁴ :	Carbono 14
Ca ⁺⁺ :	Ión calcio
Cl ⁻ :	Ión cloruro
CO ₂ :	Anhídrido carbónico
CO ₃ H ⁻ :	Ión bicarbonato

Cu^{++} :	Ión cúprico
F^- :	Ión fluoruro
Fe^{++} :	Ión ferroso
H^+ :	Hidrogenión
H^3 :	Tritio
H_2O :	Agua
NaOH :	Hidróxido sódico
NH_3 :	Amoniaco
R-CO-NH_2 :	Fórmula general de las amidas
R-COOH :	Fórmula general de los ácidos orgánicos
$\text{R-COO-R}'$:	Fórmula general de los ésteres
R-OH :	Fórmula general de los alcoholes
Zn^{++} :	Ión zinc

Símbolos

[] :	En química, concentración de
\neq :	Distinto de
$=$:	Igual a
\equiv :	Idéntico a
$>$:	Mayor que
\geq :	Mayor o igual que
$<$:	Menor que
\leq :	Menor o igual que
\in :	Pertenece a
Σ :	Sumatorio
$ $:	Valor absoluto de

Unidades

Å :	Angstrom
c.c. :	Centímetro cúbico
Kg :	Kilogramo
l :	Litro
meq. :	Miliequivalente
mg :	Miligramo
ml :	Mililitro
N :	Normalidad de una disolución
nm :	Nanometro
ng :	Nanogramo
ug :	Microgramo
ul :	Microlitro

INDICE

I.	INTRODUCCION	17
II.	PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	24
III.	PARTE TEORICA	26
	A) Cinética de los fármacos en el organismo	27
	1. <i>Absorción</i>	27
	2. <i>Transporte y Distribución</i>	33
	3. <i>Barreras naturales</i>	38
	4. <i>Biotransformación</i>	43
	5. <i>Excreción</i>	49

B) Fijación de fármacos a proteínas plasmáticas	53
1. Aspectos fisico-químicos de la unión fármaco - proteína	54
2. Estructura de la albúmina . Sitios de fijación	56
3. Factores fisiopatológicos que modifican la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas	61
IV. MATERIAL Y METODOS	75
1. Selección de los casos	76
2. Tratamiento de las muestras	80
3. Determinaciones analíticas	81
4. Método estadístico	94
5. Tratamiento informático	100

V.	RESULTADOS	101
	1. <i>Proteinemia</i>	102
	2. <i>Acidos grasos libres</i>	104
	3. <i>Fijación "in vitro"</i> <i>de sulfisoxazol</i>	105
	4. <i>Fijación "in vitro"</i> <i>de diacepán</i>	107
	5. <i>Fijación "in vitro"</i> <i>de digitoxina</i>	109
VI.	DISCUSION	112
VII.	CONCLUSIONES	123
VIII.	TABLAS	126
IX.	FIGURAS	151
X.	BIBLIOGRAFIA	181

I. INTRODUCCION

La gran mayoría de los fármacos, una vez en el torrente sanguíneo, se encuentran en dos formas distintas : una parte disuelta en el agua plasmática, a la que se denomina fracción libre, y otra parte unida a las proteínas plasmáticas o fracción fija.

En condiciones normales las fracciones fija y libre de un fármaco son relativamente constantes, por ejemplo la fracción fija de la ampicilina es de un 30 % , la de la fenilbutazona de un 98 % , etc.

Una droga que se ligase totalmente y con firmeza a las proteínas plasmáticas no tendría acceso a los sitios celulares de acción, y su biotransformación y eliminación estarían alteradas.

Es decir, cuanto mayor es la fijación, menor es el volumen de distribución del fármaco.

Sólamente la parte libre en plasma de un fármaco, la no fijada a proteínas, es activa : puede distribuirse, ejercer sus efectos terapéuticos y/o tóxicos y metabolizarse y eliminarse normalmente. (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Por tanto el conocimiento del grado de fijación de una droga a las proteínas plasmáticas es indispensable, desde un punto de vista clínico, para el correcto ajuste de dosificación que consiga la más aceptable relación entre efectos terapéuticos y tóxicos. (8, 9, 10).

El estudio de las interacciones entre moléculas orgánicas y proteínas del plasma comienza en los años 30, y fue revisado por Goldstein. (11).

Las primeras investigaciones sobre fijación de colorantes aniónicos a las proteínas plasmáticas de pacientes con insuficiencia renal revelaron disminución en dicha fijación. [Benhold 1.932, Onishi y Sugs 1.940 : citados por Baker (12) ; Ehrstron 1.937 (13)].

Muchos investigadores en los años 60 encontraron que la fijación de sulfamidas estaba disminuida en los pacientes urémicos. [Revisado por Reidenberg (14)].

Odar-Cederlof, Lunde y Sjoqvist (15) fueron los primeros en observar disminución de la fijación de fenitoina en pacientes urémicos, hecho posteriormente confirmado por Reidenberg y cols. (16).

Tanto la fenitoina como las sulfamidas y los colorantes son sustancias ácidas, en cambio la desmetil-imipramina, que es básica, no presenta disminución en la fijación a proteínas de pacientes urémicos (14, 15, 16).

De todas las proteínas plasmáticas, la más importante desde un punto de vista cuantitativo, en la fijación de fármacos, principalmente de sustancias débilmente ácidas, es la albúmina. Esto no quiere

decir que otras proteínas no jueguen también un papel destacado, como por ejemplo la alfa-1-glicoproteína ácida, lipoproteínas, etc. , que intervienen principalmente en la fijación de drogas básicas. (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34).

La evidencia de que las drogas catiónicas se fijan a otras proteínas diferentes a la albúmina se debe a Nilssen y cols. (35, 36, 37) y a Fremstad (38), que encontraron que la quinidina se fija a la alfa-1-glicoproteína ácida , un "marcador" de procesos agudos, y que esta fijación estaba aumentada después de la cirugía en concordancia con el incremento de dicha proteína.

Multitud de factores fisiológicos (39, 40, 41, 42, 43, 44) y alteraciones patológicas (45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53) modifican la fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas, con sus consiguientes implicaciones para la terapéutica. Pero estas modificaciones no sólo ocurren en sujetos con algún estado patológico capaz de producirlas, sino que a lo largo de la vida de un individuo normal se producen cambios naturales en su fisiología, que en el aspecto que nos ocupa, provocan marcadas diferencias según la edad (54, 55). Así por ejemplo, en la vejez muchas drogas que exhiben una fija-

ción aumentada son básicas, y tienen una mayor afinidad por la alfa-1-glicoproteína ácida (aumentada en estas edades) que por la albúmina. La lista de las que muestran una fijación disminuida es larga e incluye tanto drogas ácidas como básicas. (56, 57, 58, 59, 60).

Pero es en la infancia, y sobre todo en el recién nacido, donde los patrones farmacocinéticos son más variables, y estas diferencias no son siempre cuantitativas, sino principalmente cualitativas. Considerar al recién nacido como un adulto pequeño es un craso error. (61, 62, 63).

El neonato es un organismo que va adaptándose rápidamente al nuevo medio ambiente mediante una continua y rápida secuencia de cambios anatómofisiológicos. La inmadurez de varios de sus órganos puede alterar no sólo la farmacocinética, sino también la toxicidad de muchos fármacos. Además, la gran variabilidad de las propiedades cinéticas como absorción, fijación a proteínas, metabolismo, distribución y excreción, según su grado de madurez (que depende principalmente de la edad gestacional), sin contar la posible existencia de anomalías o síndromes patológicos, hace difícil el rigor en la terapéutica. (64, 65).

Es bien sabido que el volumen aparente de distri-

bución de los fármacos es mayor en el recién nacido que en el adulto y esto se explica, además de por la distinta configuración de los diferentes compartimentos líquidos, porque en el R. N. hay una disminución en la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas, un déficit en la actividad esterásica del plasma, y otras diferencias como una actividad metabólica y enzimática general disminuida, déficit en la función renal, etc. (61, 66).

En la reducción de la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas en el R. N. intervienen factores como concentración proteica disminuida, albúmina cualitativamente diferente que muestra una menor afinidad por las drogas, niveles de gammaglobulinas y lipoproteínas reducidos, elevación postnatal de las concentraciones de bilirrubina no conjugada y de ácidos grasos libres, pH sanguíneo relativamente ácido (7,20 - 7,35), hipoxemia relativa, disminución de proteína Y hepática (considerada como la principal proteína fijadora de aniones), y finalmente la posible presencia de sustancias competidoras de origen materno. (61, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73).

Todo ello tiene una gran importancia desde un punto de vista clínico y terapéutico. Por ese motivo, y en interés de la farmacología perinatal, se ha dise-

ñado este trabajo con el fin de estudiar la fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas en la sangre del cordón umbilical de R. N. con diferentes edades gestacionales (prematuros, a término y postmaduros).

**II. PLANTEAMIENTO
Y OBJETIVOS**

Dado que el neonato es un organismo que necesariamente va adaptándose con una gran rapidez a la nueva situación en las primeras semanas de su vida, parece razonable suponer que en el último periodo de su etapa gestacional, (estrecho intervalo de tiempo en que tienen lugar intensas modificaciones en las proteínas plasmáticas, compartimentos cinéticos, funciones secretoras, etc.) deben ocurrir profundos cambios en multitud de parámetros biológicos y, por tanto, también en la fijación de fármacos a la molécula de albúmina.

Partiendo de este planteamiento básico, los objetivos principales de este trabajo son :

1. Estudiar "in vitro" la fijación de sulfisoxazol, diacepán y digitoxina a la molécula de albúmina en la edad perinatal.
2. Investigar si existen diferencias significativas en esta fijación cuando la estudiamos en individuos de diferentes edades gestacionales.
3. De existir una modificación significativa, comprobar si se correlaciona con la edad gestacional.

III. PARTE TEORICA

A) CINETICA DE LOS FARMACOS EN EL ORGANISMO

1. Absorción

Para que puedan ejercer sus efectos, los medicamentos tienen que sufrir previamente un proceso de absorción, es decir el paso al interior del organismo desde el medio externo. Esto significa que el fármaco tiene que atravesar diversas membranas corporales hasta llegar al lugar de acción.

Las membranas celulares están formadas por una doble capa de fosfolípidos en la que se intercalan esferoproteínas polares, con los grupos iónicos situados hacia las superficies de la membrana en contacto con el medio acuoso extra e intracelular. A esta disposición se la llama estructura en "mosaico fluido". (74). (Fig. 24).

La membrana celular tiene un espesor de 80-100 Å y presenta "poros" (concepto teórico con realidad funcional) de un diámetro aproximado de 7-10 Å y con potenciales electrostáticos positivos.

El paso de sustancias a través de la membrana puede hacerse de diversas formas (3, 75, 76) :

a) *Difusión pasiva* : por este mecanismo pueden atravesar la membrana principalmente sustancias liposolubles, siguiendo las leyes físicas de gradiente

de concentración, de presión osmótica, de presión hidrostática, de presión parcial (para los gases) y de diferencia de potencial.

Además hay que tener en cuenta el grado de ionización de la sustancia. Todos aquellos compuestos muy ionizados a pH fisiológico, como por ejemplo ácidos y bases fuertes, encuentran gran dificultad para atravesar las membranas, mientras que aquellos poco ionizados al mismo pH (ácidos y bases débiles) lo hacen mucho más fácilmente. ya que la fracción no ionizada es la que atraviesa la membrana, por ser liposoluble, mientras que la ionizada a menudo no puede transpasar la membrana lipoide por su baja liposolubilidad, ni atravesar los poros por su mayor tamaño que éstos.

La relación entre la forma no ionizada y la ionizada de un fármaco a cada valor de pH se puede calcular según la ecuación de Henderson-Hasselbach :

$$pK_a = pH + \log \frac{[\text{ Ionizada }]}{[\text{ No ionizada }]} \quad \text{para las bases}$$

$$pK_a = pH + \log \frac{[\text{ No ionizada }]}{[\text{ Ionizada }]} \quad \text{para los ácidos}$$

En lo que se refiere a las sustancias hidrosolubles, sólo aquellas que poseen un tamaño molecular muy pequeño pueden atravesar la membrana sin consu-

mo de energía, por los poros o canales acuosos existentes en ella.

b) *Transporte facilitado* : este tipo de difusión comprende aquellos trasiegos moleculares a través de las membranas, que si bien siguen las leyes de los gradientes y no precisan consumo de energía, requieren la presencia de un transportador para poder verificarse.

Mediante este mecanismo de transporte se explica el paso de sustancias no solubles en lípidos a través de las membranas, ya que la unión transportador-sustrato da lugar a un complejo liposoluble capaz de atravesar la membrana. La formación o ruptura del complejo se relaciona con la concentración de la sustancia a ambos lados de la membrana. Además son frecuentes los fenómenos de saturación del transportador (cuando la concentración de sustrato es alta), y de competición cuando varias sustancias pueden combinarse con el mismo transportador.

Se ha comprobado que los inhibidores de los grupos -SH (por ejemplo el paracloromercuribenzoato), y de los grupos amino (por ejemplo el fluordinitrobenceno) inhiben la difusión facilitada, por lo que se supone que son esos grupos de los aminoácidos del transportador los que se unen al

sustrato.

c) *Transporte activo* : Las sustancias que utilizan este tipo de transporte lo hacen en contra de las leyes de los gradientes, es decir desde un medio en el que se hallan a menor concentración a otro donde se encuentran a mayor concentración, o bien desde un medio a otro que posee una carga eléctrica del mismo signo pero mayor que la del primero y del mismo signo que la sustancia transportada.

También para esta clase de transporte se requiere la presencia de un transportador específico, y además necesita un elevado gasto de energía. (Un ejemplo es la "bomba de sodio" cuya energía procede de la escisión del ATP en ADP gracias a la acción de la enzima adenosintrifosfatasa).

Además de los factores fisicoquímicos expuestos, hay muchas variables que influyen en la absorción de los fármacos, como su solubilidad, su concentración, el estado de la circulación en el lugar de absorción, y el área de la superficie de absorción. Este último es uno de los factores más importantes que determinan el grado en que se absorbe un fármaco, y depende en parte de la vía de administración. (77)

Dentro de las posibles vías de administración de un fármaco destacan, por su trascendencia clínica,

la digestiva y la parenteral.

La absorción de fármacos por el aparato digestivo suele ser debida en su mayor parte a fenómenos de difusión simple a través del epitelio intestinal. Si el medicamento es ácido o base débil, la concentración de la fracción no ionizada (liposoluble y por tanto capaz de atravesar la membrana) será elevada en líneas generales, aunque dependerá del pH del medio.

Por tanto la absorción en el estómago se ajusta en general a estos principios :

.- los ácidos débiles como salicilatos y barbitúricos, que están poco ionizados en el estómago, se absorben fácilmente, mientras que los ácidos fuertes cuyos valores de pKa están por debajo de 1, y se ionizan aún en el contenido ácido del estómago, se absorben mal.

.- las bases débiles, por ejemplo quinidina y efedrina, se absorben muy poco en el estómago, aunque se puede incrementar dicha absorción si se eleva el pH del líquido gástrico. (78)

La absorción en el intestino se diferencia porque su pH es próximo a 7, lo que provoca que sean los ácidos con pKa mayor de 3 y las bases con pKa menor de 8 las que se absorban mejor. (79)

Otra vía digestiva es la rectal, aunque aquí la

absorción es irregular e incompleta.

Entre las vías de administración parenteral destacan la intravenosa, intramuscular y subcutánea.

Los medicamentos liposolubles se absorben a partir de los lugares de la inyección i.m. o s.c. por difusión simple a través de la pared de los capilares sanguíneos, y de forma proporcional al coeficiente de reparto lípido/agua del fármaco. Otros factores que influyen en la absorción por estas vías son el área total de la membrana de absorción y la solubilidad de la sustancia en el líquido intersticial. Estos y otros factores no intervienen en la inyección endovenosa, aunque esta vía presenta varios riesgos, como la mayor probabilidad de reacciones indeseables y la imposibilidad de detener el fármaco una vez inyectado.

Otras vías parenterales como la intraarterial, intratecal o intraperitoneal son empleadas en general en situaciones especiales.

En lo que se refiere a la aplicación tópica, también la absorción a través de la piel depende de la solubilidad del medicamento en lípidos.

2. Transporte y Distribución

Una vez administrado y absorbido un fármaco, éste se encuentra en el torrente circulatorio y se distribuye en los líquidos intersticial y celular. Esta distribución depende entre otros factores, del flujo de sangre a los tejidos, de la liposolubilidad y grado de ionización del fármaco, de su coeficiente de reparto entre los diferentes tejidos y la sangre circulante, del volumen de los tejidos en que se distribuye, de la unión de la droga a las proteínas del plasma o a otros componentes sanguíneos y de su grado de fijación a los diferentes tejidos. (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 75, 76, 80, 81, 82).

La distribución orgánica no es casi nunca uniforme. Hay sustancias que atraviesan difícilmente las membranas celulares y cuya distribución se limita al espacio extracelular; otras por el contrario las atraviesan con facilidad, y su distribución es muy amplia; otras incluso se concentran de modo especial en determinados tejidos, tales como grasa, hueso, etc. (83).

Se puede considerar que el agua corporal se encuentra en varios compartimentos distintos desde el punto de vista funcional aunque en permanente equilibrio dinámico. Estos son el espacio intracelular y

el extracelular, este último a su vez dividido en espacio vascular e intersticial. El volumen de estos compartimentos varia, pero si consideramos una persona de 70 kg puede aceptarse que el agua corporal total ocupa un 58 % aproximadamente, es decir 41 litros. El agua extracelular es una tercera parte, 12 litros (17 % del peso corporal), de los cuales 3 (4 % del peso corporal) corresponden al agua plasmática. El volumen total de sangre, incluyendo el agua intracelular de los hematíes es cercano al doble del volumen plasmático, es decir aproximadamente 6 litros.

En las personas obesas una gran fracción del peso corporal es grasa, por lo que todos los compartimentos líquidos representan porcentajes menores del peso corporal. Por el contrario, en los niños el porcentaje de agua con respecto al peso corporal es mayor (un 77 % aprox.), en parte debido a que el tejido óseo, incompletamente calcificado, contribuye menos al peso corporal que en el adulto. (61, 64).

El volumen aparente de distribución de un fármaco (Vd) es el volumen líquido en que aparentemente se disuelve. Si se supone que un fármaco se distribuye instantáneamente en forma homogénea y sin ninguna degradación metabólica, se puede considerar que el Vd es igual al cociente entre la cantidad de

fármaco administrado "X" y su concentración plasmática "C", en un momento dado : $Vd = X / C$

Podría suponerse por ejemplo, que un fármaco cuyo Vd fuera de 12 litros se localiza en el líquido extracelular y no en el interior de las células. Esta interpretación simple y directa puede ser errónea ya que si el fármaco se une de forma apreciable a las proteínas plasmáticas, y lo que se determina es su concentración en plasma total, en lugar de hacerlo en el agua plasmática, estaremos midiendo una concentración indebidamente alta y por tanto el cálculo del Vd será falsamente bajo.

Por otra parte, la unión o secuestro del fármaco en un sitio extravascular puede extraer tanto de la circulación, que el Vd parecerá ser muy grande. Por tanto habrá que tener en cuenta todos estos factores a la hora de interpretar el volumen aparente de distribución de un fármaco.

El paso de los fármacos desde la sangre al líquido intersticial requiere atravesar la pared capilar. Las moléculas liposolubles lo hacen fácilmente, ya que su coeficiente de partición lípido / agua es alto. Las moléculas hidrosolubles pequeñas también pasan con cierta facilidad por difusión a través de los poros o canales acuosos del endotelio capilar. En cambio las de mayor tamaño lo hacen con más

dificultad, bien mediante transporte activo o quizás mediante mecanismos de pinocitosis.

De lo anterior se deduce que la velocidad a la que un fármaco abandona el torrente circulatorio depende de su liposolubilidad, su P_m y su estado físico de agregación. Si está unido a macromoléculas su velocidad de paso vendrá determinada por la de la proteína u otra sustancia a la que esté ligado.

Los capilares difieren bastante en sus características de permeabilidad. (84, 85). Por ejemplo, los del glomérulo son mucho más permeables a las moléculas de todos los tamaños que los de los músculos. Los capilares sinuosos del hígado parecen carecer de pared endotelial y por tanto permiten el paso de grandes moléculas con bastante facilidad.

Todos los capilares, excepto los cerebrales, permiten el paso de los fármacos con relativa facilidad en comparación con las membranas celulares. Los capilares cerebrales, recubiertos por una capa celular, son prácticamente impermeables a las moléculas hidrosolubles de todos los tamaños. (84, 85, 86).

La permeabilidad capilar se puede favorecer o facilitar por sustancias como la histamina o los estrógenos y por la disminución del pH tisular asociado con la producción de ácido láctico.

Agentes humorales como la noradrenalina afectan

el paso de sustancias a través de los capilares, por contracción de las arteriolas, reduciendo por tanto el flujo capilar.

Una vez el fármaco en el líquido intersticial, para penetrar en el compartimento intracelular ha de atravesar las membranas celulares, mediante los mecanismos ya tratados anteriormente.

El trasiego de sustancias a través de las membranas celulares, aunque se rija por esos principios generales, presenta algunas variaciones ya que las membranas de diferentes células difieren considerablemente en su estructura y función. Por ejemplo las células del hígado y del páncreas debido a que producen proteínas que se utilizan en otros lugares del organismo, requieren un mecanismo para secretar macromoléculas, la exocitosis. (75, 76, 85). De igual modo, en las terminales sinápticas de las neuronas opera un mecanismo similar para liberar los neurotransmisores de las vesículas presinápticas. Es evidente que el Ca^{++} juega un papel importante en estos hechos. (84).

3. Barreras naturales

a) *Barrera hematoencefálica* : una de las zonas del organismo donde la distribución de fármacos se realiza de modo anómalo es el cerebro. En el S.N.C. pueden entrar los fármacos a través de dos vías : el L.C.R. y la circulación capilar.

En general el cerebro es muy poco permeable al paso de sustancias hidrosolubles. (86). Esto se debe a la unión íntima de las células del tejido conectivo glial (astrocitos) con la membrana basal del endotelio capilar. La capa glial cubre aproximadamente un 85 % de la superficie capilar.

Por tanto para que un fármaco pueda pasar desde los capilares al S.N.C. tiene que atravesar el endotelio y las membranas de las células gliales para llegar al líquido intersticial (que ocupa entre un 5 y un 15 % del volumen cerebral y cuya composición es muy diferente a la de otros líquidos intersticiales, por su falta casi total de proteínas).

El L.C.R. ocupa un volumen de 200 ml y hasta él pueden llegar los fármacos a través de los plexos coroideos o por difusión directa a partir de capilares al líquido intersticial.

La salida de los fármacos se produce por movimiento hacia los senos venosos, difusión hacia los

capilares, absorción en los plexos coroideos o difusión hacia las neuronas.

El paso de sustancias al L.C.R. depende de factores ya discutidos al hablar de la absorción y distribución de fármacos a los tejidos :

.- su unión a las proteínas plasmáticas, ya que sólo la fracción libre de un fármaco puede difundir.

.- su pK, que será el determinante del grado de ionización del fármaco a pH fisiológico. La fracción no ionizada atravesará más fácilmente las membranas.

.- su coeficiente de reparto lípido / agua , ya que cuanto mayor sea éste más tendencia tendrá a pasar la fracción no ionizada. Por ejemplo el tiopental y el pentobarbital se ionizan poco en el rango de pH plasmático, pero el segundo penetra más lentamente en el L.C.R. ya que su coeficiente de reparto es menor.

Según lo expuesto, variaciones en el pH sanguíneo pueden ocasionar importantes efectos sobre todo en fármacos con un pK cercano a 7,4. Así, en este caso, la alcalosis favorecerá la entrada de bases en el S. N.C., mientras que la acidosis favorecerá la entrada de ácidos.

b) *Placenta* : otra de las consideradas barreras naturales es la placenta. En ella se distingue una organización interna en cotiledones (unidades de intercambio hemal) formados por vellosidades y senos sanguíneos, separados entre sí por tabiques incompletos de corión. (87). (Fig. 25).

Las arteriolas espirales maternas extravasan su contenido en los senos sanguíneos reuniéndose después la sangre venosa en las venas uterinas. La sangre venosa fetal llega a la placenta por las arterias umbilicales, y su ramificación radial alcanza en la placa coriónica a todas las vellosidades. El retorno de la sangre se produce en sentido inverso, desde las vénulas radiales hasta la vena umbilical.

La transferencia de sustancias entre las sangres materna y fetal, a través de la placenta a término requiere el paso por dos capas celulares, el trofoblasto y el endotelio capilar fetal, además de una lámina basal entre ambas de diverso desarrollo.

Esta barrera placentaria impide el intercambio libre e indiscriminado de moléculas en ambos sentidos. El desarrollo de actividad vascular, vesicular y pinocítica en ambas capas celulares indica su implicación en el control del trasiego de sustancias a su través.

Los mecanismos de transferencia placentaria prin-

cipales no difieren básicamente de los ya tratados con anterioridad, es decir :

1) difusión pasiva : en la que la velocidad de transferencia disminuye con el tamaño molecular y la hidrosolubilidad. Ejemplos : ácidos grasos, electrolitos, gases, etc.

2) difusión facilitada : que requiere transportador estereoespecífico para aumentar el coeficiente de difusión de la sustancia. Ejemplos : glucosa, lactato, etc.

3) transporte activo : contra gradiente, mediado por transportadores específicos y dependiente de energía. Ejemplos : algunos cationes, vitaminas hidrosolubles, aminoácidos, etc.

Los requerimientos fetales de aminoácidos son grandes, ya que la proliferación celular exige una alta velocidad de síntesis de proteínas, sin embargo el feto toma de la madre mucha mayor cantidad de la necesaria para la síntesis y recambio proteico (sus niveles de aminoácidos en sangre son mayores que los de la madre), lo que sugiere que los utiliza también como fuente de energía, junto con la glucosa.

4) arrastre por solvente : paso paracelular a través de canales intersticiales. Ejemplo : electrolitos.

5) procesos vesiculares : la formación de vesí-

culas endocíticas para transportar moléculas de alto Pm , se produce previo reconocimiento de dichas moléculas en lugares específicos del glucocálix de la membrana celular (receptores). Este proceso explicaría, por ejemplo, el paso de inmunoglobulinas de la madre al feto.

6) rotura de vasos sanguíneos o trofoblasto, abertura de poros, actividad fagocítica (órganos hematófagos). Puede ser ocasional o específico, por ejemplo, podría suponer transporte de Fe^{++} .

Además de controlar el intercambio de sustancias entre la madre y el feto, la placenta posee también una gran actividad metabólica propia y una indudable importancia desde un punto de vista endocrino.

Es evidente que las sustancias producidas o metabolizadas por ella pueden modificar, principalmente por competición o por inducción de cambios en la estructura de las proteínas plasmáticas, la fijación de los fármacos a éstas, tanto en la madre como en el feto.

4. Biotransformación de los fármacos

Antes de ser excretados, la mayoría de los fármacos sufren una serie de procesos de metabolización (3, 61, 64, 66, 76, 88, 89, 90) por la acción de determinados enzimas presente en el organismo.

En general son convertidos en sustancias más polares que, al ser más solubles en agua, son eliminadas por vía renal con más facilidad.

No siempre la transformación metabólica de un fármaco ocasiona su inactivación. Existen sustancias que son farmacológicamente inertes y necesitan ser metabolizadas para ser activas. En otras ocasiones los propios metabolitos son tanto o más activos, desde el punto de vista farmacológico, que el compuesto primitivo.

Químicamente las reacciones metabólicas pueden ser oxidaciones, reducciones, conjugaciones, hidrólisis y reacciones de intercambio.

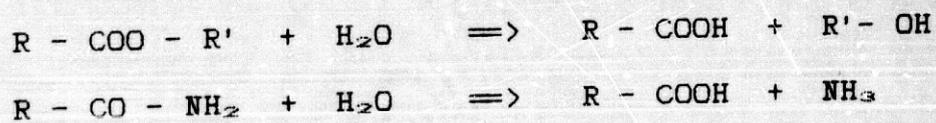
La oxidación consiste en la adición de oxígeno o en la pérdida de hidrógeno. La O-desalquilación, el desdoblamiento de éteres o la N-desalquilación, por la que se separan los grupos metil, etil o butilo unidos a un átomo de nitrógeno, son también reacciones de oxidación, al igual que la desaminación oxidativa y la formación de sulfóxidos.

La reducción consiste en la pérdida de oxígeno o adición de hidrógeno. Es menos frecuente que la oxidación y se produce en el metabolismo de aldehidos, cetonas, compuestos azoicos y algunos nitroésteres.

La conjugación es la combinación del fármaco con ciertas sustancias del organismo como el ácido glucurónico, ácido acético, etc. La conjugación con ácido glucurónico se produce en los grupos hidroxilo de casi todos los compuestos alifáticos, con formación de un éter, y en los grupos carboxilo de los compuestos aromáticos con formación de un éster.

La conjugación con ácido acético o acetilación se observa por ejemplo en el metabolismo de las sulfamidas, isoniacida, etc. El grupo acetilo que se transfiere a estos compuestos debe ser previamente activado por el coenzima A.

Las reacciones de hidrólisis actúan sobre fármacos con enlace tipo éster o amida :



La hidrólisis de las amidas es más lenta que la de los ésteres, de forma que, por ejemplo, los efectos de la procainamida son más duraderos que los de la procaina, el éster correspondiente.

a) *Metabolismo hepático :*

El hígado es el órgano más importante en lo que se refiere a la transformación metabólica de los fármacos.

Los enzimas se encuentran principalmente en el retículo endoplasmático (estructura que al homogeneizar el tejido y centrifugarlo a un determinado número de revoluciones permite la obtención de los llamados microsomas), en el citosol y en las mitocondrias y microcuerpos de los hepatocitos. (Figura 26).

Los enzimas microsomales catalizan principalmente síntesis de glucuronatos, y reacciones de oxidación en presencia de NADPH_2 y del citocromo p450 contenido en los microsomas.

La actividad de estos enzimas puede estimularse o inhibirse tras la administración de ciertos fármacos, por ejemplo el fenobarbital o algunas hormonas esteroideas la aumentan, mientras que el B-dietilamino-etil-difenil-propilacetato (SKF 525 A o Proadifeno) actúa de forma inhibidora.

Entre los enzimas no microsomales tenemos, por ejemplo, la alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa, presentes en la fracción soluble del hígado; la monoaminoxidasa (MAO), que se en-

cuentra en las mitocondrias ; los enzimas acetiladores, presentes principalmente en la fracción soluble, y las esterases que catalizan las reacciones de hidrólisis (estas últimas también se han detectado en los microsomas).

b) Metabolismo extrahepático :

1. Plasma : entre las proteínas plasmáticas hay numerosos enzimas que pueden intervenir en el metabolismo de fármacos. Probablemente las más importantes sean las esterases, que también se encuentran en otros tejidos como cerebro, riñón, hematíes e hígado.

Existen varios tipos de esterases en el plasma (91) , así, las arilesterasas son las responsables de la hidrólisis de ésteres aromáticos. Se sintetizan en el riñón, aunque probablemente el hígado también participe en su síntesis.

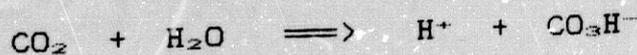
Desde el punto de vista farmacológico tiene especial interés el estudio de la pseudocolinesterasa, responsable de la hidrólisis de diversos ésteres de la colina y del ácido acético, del ácido acetil salicílico, de alcoholes alifáticos, de algunos triglicéridos, etc.

Se han descrito muchas modificaciones en la actividad hidrolítica de este enzima. Reidenberg y cols. (92) observaron una disminución de la actividad pseudocolinesterásica en recién nacidos que ocasiona un enlentecimiento de la hidrólisis de la procaina.

En algunos individuos existe una pseudocolinesterasa atípica, que origina una acción prolongada de la succinilcolina (relajante muscular despolarizante) . Existen otras variantes como la colinesterasa resistente al fluoruro, sujetos sin actividad esterásica en el suero (por defecto hereditario), individuos con un incremento en dicha actividad (generalmente debido a una mayor cantidad de enzima) , etc.

En enfermos hepáticos la colinesterasa está disminuida en un grado que guarda relación con la gravedad del proceso (93). También hay una disminución en la insuficiencia renal (92, 94) , y en el carcinoma gástrico (95) , entre otros procesos.

2. Eritrocitos : se han encontrado esterases de diferentes clases en los hematíes, de las que las más importantes son la acetilcolinesterasa y la anhidrasa carbónica (96). Esta última cataliza la hidratación reversible del anhídrido carbónico :



También la del acetaldehído y la deshidratación reversible del 2,2 dihidroxi-propionato. Además interviene en la hidrólisis de ciertos ésteres.

La actividad de este enzima puede verse inhibida por diversas sustancias como la acetazolamida, el F^- , Cu^{++} , diversos alcoholes, etc.

5. Excreción

Las dos vías principales por las que los fármacos y/o sus metabolitos abandonan el organismo son la renal y la biliar (3, 61, 64, 76, 84).

a) *Excreción renal* : el paso de las drogas y de los productos derivados de su biotransformación a la orina tubular se produce mediante filtración glomerular y en muchos casos por secreción en el túbulo.

La filtración glomerular es unidireccional. Los fármacos disueltos, disociados o no, no ligados a las proteínas del plasma (97), son filtrados junto con el agua y los cristaloides plasmáticos a través de las membranas glomerulares. Salvo pequeñas cantidades de albúmina, las proteínas no pueden filtrarse.

El transporte tubular es bidireccional. La secreción y reabsorción están mediadas por transportadores situados en los túbulos proximales. La unión a las proteínas plasmáticas influye poco sobre la secreción tubular, salvo en los casos de sustratos con poca afinidad por el transportador.

Existen mecanismos de transporte separados para la secreción tubular de aniones y cationes orgánicos.

El transporte consume energía, puede saturarse por concentraciones elevadas de sustrato, se bloquea por inhibidores metabólicos y existen fenómenos de competición (por ejemplo el probenecid compite con la penicilina prolongando la duración de la acción de ésta en el organismo).

Los mecanismos de transporte en el túbulo proximal tienen una capacidad limitada. El filtrado glomerular de un fármaco no está sujeto a esta limitación : a medida que la concentración de su fracción libre aumenta en el plasma, la cantidad filtrada crece de forma lineal.

Los fármacos filtrados o secretados a los túbulos renales pueden sufrir reabsorción tubular y pasar de nuevo a la sangre. Esto depende del gradiente de concentración, del pH urinario, y también de mecanismos de transporte activo (por ejemplo la glucosa, aminoácidos y sales biliares pueden reabsorberse por ese medio). Cuando se altera el pH urinario se modifica el grado de ionización de los medicamentos y, por tanto, su reabsorción. Una orina alcalina impide la reabsorción y favorece la eliminación de fármacos como las sulfamidas, barbitúricos o ácido acetilsalicílico, mientras que dificulta la excreción de fármacos básicos (vgr. anfetaminas). Este principio se utiliza para combatir algunas intoxicaciones.

ciones, por ejemplo de fenobarbital. Igualmente la administración de anfetaminas con bicarbonato sódico no sólo aumenta sus efectos farmacológicos, sino que también dificulta la detección del fármaco en la orina de atletas que ingieren estimulantes para aumentar su rendimiento físico.

El conocimiento de los factores que retrasan o favorecen la excreción renal de los fármacos es útil desde el punto de vista clínico, especialmente en el ajuste de dosis en enfermos y en edades en que la capacidad renal está modificada.

b) *Excreción biliar* : un fármaco se puede excretar por las células hepáticas a la bilis y pasar con ésta al intestino.

Con frecuencia, primero se conjuga el fármaco en el hígado y después pasa a la bilis como glucuronato, sulfato, glicinato o conjugado con glutation. Si el fármaco o sus metabolitos se absorben bien en el intestino puede establecerse un ciclo enterohepático hasta que sean eliminados por excreción renal. A veces una fracción importante de fármaco queda atrapada en dicho ciclo prolongando su permanencia en el organismo.

La vía de excreción biliar tiene una función muy importante en la eliminación de compuestos con Pm

mayor de 300, ya sean aniones, cationes o moléculas sin disociar que contengan grupos polares y lipofílicos.

Otras vías de excreción como la respiratoria, sudorípara, etc. tienen menos importancia.

B) FIJACION DE FARMACOS A PROTEINAS PLASMATICAS

Desde un punto de vista clínico la fijación de fármacos a proteínas es importante por la posibilidad de interacciones farmacológicas, y porque en caso de alteración de dicha fijación pueden producirse cambios marcados en la fracción libre de diversos fármacos que alteren la cinética y provoquen importantes repercusiones terapéuticas.

Esto es así, sobre todo para los fármacos que se eliminan por filtración glomerular (ya que sólo la fracción libre puede ser excretada por el glomérulo), que para los que también lo hacen por secreción activa a nivel tubular. En este último caso las posibles alteraciones de la fijación a proteínas plasmáticas tienen menor relevancia.

También en lo que se refiere a la excreción biliar, la disminución en la fijación a proteínas aumenta la velocidad de eliminación del fármaco.

Igualmente, la biotransformación de la droga puede verse modificada si su grado de unión a proteínas está alterado. Así, los fármacos metabolizados por sistemas de "baja capacidad" lo son más rápidamente cuanto menos ligados a proteínas estén. En cambio, para los que son biotransformados por sistemas de

"elevada capacidad" (por ejemplo, el propanolol), que metabolizan al fármaco esté unido o no a proteínas, la fijación representa un factor de retención de la droga en la circulación, favoreciendo por tanto su metabolismo y eliminación.

1. Aspectos físico-químicos de la unión fármaco-proteína

Los fármacos y otras sustancias se unen a las proteínas plasmáticas mediante diferentes tipos de enlace :

a) *Enlace iónico* : se debe a la atracción electrostática entre iones de carga distinta.

b) *Puentes de hidrógeno* : son enlaces entre hidrógeno y oxígeno o nitrógeno situados en moléculas distintas.

c) *Fuerzas de Van der Waals* : que se dan cuando dos átomos se aproximan mucho, y son las más débiles de todas las fuerzas de fijación.

d) *El enlace covalente* , en el que se comparten pares de electrones entre dos átomos, no es frecuente en la unión fármaco-proteína, ya que prácticamente es de carácter fijo , y por tanto dificultaría la reversibilidad de la unión.

La reacción de un fármaco con una proteína en una

serie de puntos (98, 99), mediante los distintos tipos de enlace mencionados, es suficiente para la formación del complejo reversible fármaco-proteína (100). Esta fijación reversible requiere que la configuración (estructura terciaria) de la proteína esté intacta (101, 102, 103).

La estructura de la proteína puede variar (104, 105), o bien ser alterada por algunas moléculas de fármaco o de otras sustancias, capaces de modificarla tras fijarse a su superficie (106, 107, 108). Los cambios de configuración resultantes alteran la afinidad con respecto a la molécula inicial (por ejemplo el ácido acetilsalicílico y la fenilbutazona alteran la estructura de la albúmina cuando se fijan a ella, y ésto puede ocasionar variaciones en la unión de otras sustancias).

El complejo reversible fármaco-proteína sirve como reservorio circulante del fármaco, del que se irá liberando progresivamente conforme la fracción libre se va transformando o excretando. De esta forma la unión de los fármacos a las proteínas puede disminuir la intensidad máxima farmacológica pero prolongar el tiempo de acción (109).

2. Estructura de la albúmina. Sitios de fijación

La proteína más importante en la fijación de fármacos es la albúmina. La seroalbúmina humana es una proteína globular de bajo peso molecular (69.000) constituida por una sola cadena polipeptídica de conformación elipsoidal (150 x 38 Å). En su punto isoeléctrico (pH = 4,7) posee unas 100 cargas positivas y negativas. Aunque a pH fisiológico (pH = 7,4) tiene una carga neta negativa, puede desarrollar interacción tanto con aniones como con cationes (104, 105).

Cada grupo cargado positiva o negativamente puede ser considerado como un lugar de unión para las sustancias cargadas de signo contrario. Con todo, la afinidad de estos lugares es mucho mayor que la atribuible a las fuerzas de atracción eléctrica, dependiendo la fijación de la estructura molecular y estereoisomería del fármaco (110, 111), así como del resto de fuerzas de atracción ya citadas.

Se han experimentado gran variedad de métodos para identificar los lugares de acoplamiento de los fármacos a la molécula de albúmina. La participación de residuos de aminoácidos en dicha unión ha sido demostrada mediante ruptura de la molécula en diversos segmentos (98, 99, 100, 103, 105, 112, 113).

En la actualidad se acepta la existencia de regiones de fijación específicas ("binding sites") en la molécula de albúmina, para distintas sustancias.

No obstante, algunos autores (114) prefieren hablar de "binding functions" mejor que de sitios preformados, y para ello tienen en cuenta la flexibilidad estructural de la molécula de albúmina (cuya estructura terciaria aún no es bien conocida), la gran adaptabilidad conformacional de los lugares de fijación propuestos y las mutuas interacciones alostéricas entre dichos lugares.

Sin embargo, cuando la fijación se estudia a bajas concentraciones de fármaco con respecto a la albúmina no hay diferencias entre ambos modelos, y más si se asume que la existencia de lugares de fijación preformados y bien definidos, no indica que se localicen en una simple secuencia de la estructura primaria de la proteína.

Diversos autores, como Sudlow, Birkett y Wade ; Feshke , Muller y Wollert ; Kragh-Hansen ; etc. (115, 116; 117, 118, 119; 113, 120; 121, 122, 123, 124) han determinado distintas regiones específicas de fijación de fármacos a la molécula de albúmina. Así, Feshke y cols. (118) proponen la existencia de tres zonas principales, a las que se añaden

los sitios de fijación de bilirrubina y ácidos grasos (Fig. 27) :

- a) sitio de unión de indoles y benzodiazepinas
- b) área de fijación de warfarina y azapropazona
- c) sitio de unión de la digitoxina
- d) sitio de unión de la bilirrubina
- e) sitio de unión de los ácidos grasos

a) El sitio de unión de indoles y benzodiazepinas es el mejor caracterizado en la molécula de albúmina. Corresponde al sitio II de Sudlow (115) y a la región de fijación 2 de Kragh-Hansen (113). Se localiza en el fragmento C de la albúmina (residuos 124-298) y parte del fragmento A (residuos 299-585). De todos estos residuos son especialmente importantes los formados por los aminoácidos histidina, lisina y tirosina. Los marcadores más conocidos de este sitio de fijación son el diacepán, el flurbiprofén y el L-triptófano (Tabla XX).

b) El área de fijación de la warfarina y azapropazona, también denominada sitio I de Sudlow, o región de fijación 6 de Kragh-Hansen, se localiza en el fragmento C de la albúmina, siendo el triptófano y la lisina los dos aminoácidos principalmente implicados. El área es extensa y presenta dos regiones, cada una en un extremo (en una se acopla la

warfarina y en otra la azapropazona) . Otros fármacos que se unen en esta área son el sulfisoxazol, fenilbutazona, salicilato, etc. (Tabla XX) .

c) El sitio de fijación de la digitoxina tiene afinidad por un número reducido de drogas (125) , principalmente glucósidos cardíacos (digoxina , acetildigitoxina) y algunos ácidos biliares, como el ácido cólico. No se conoce su localización precisa, aunque se admite la participación de residuos de tirosina en su estructura.

d) La fijación de la bilirrubina a la albúmina tiene especial interés por su interacción con otras drogas (65, 68, 70, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133) . Hay datos que indican un entrecruzamiento de este sitio con el área de la warfarina, por ejemplo la fijación de sulfisoxazol en pacientes cirróticos está más disminuida en los que presentan hiperbilirrubinemia (51) . También se ha detectado un descenso en la fijación de bilirrubina en presencia de fenilbutazona (127) .

Según Tillement (45) la bilirrubina puede fijarse a la albúmina en dos áreas distintas (indol y benzodiazepinas, y warfarina) con diferente afinidad. Esto explica que pueda ser desplazada o desplazar a algunas drogas.

e) Los ácidos grasos se fijan a la albúmina en

condiciones fisiológicas y pueden modificar la afinidad para otros fármacos (134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143). Hay dos lugares de alta afinidad para los ácidos grasos en la molécula de albúmina, uno para los de cadena larga relacionado con el área del indol y benzodiazepinas, y otro para los de cadena intermedia.

Además de los tres lugares principales de fijación descritos, se ha identificado uno nuevo (144, 145), en el que se unen el tamoxifén y el clomifeno, y cuya especificidad también es limitada, al igual que ocurre con el sitio de la digitoxina (Tabla XX).

En resumen podemos decir que existen al menos cuatro regiones de fijación en la molécula de albúmina (Fig. 28), de las cuales dos de ellas fijan la mayoría de los fármacos (146, 147), (Tabla XX) y otras sustancias, incluidos iones inorgánicos como Cu^{++} , Zn^{++} , Cl^- , etc. (113, 148).

No hay inhibición competitiva entre fármacos que se fijan en diferentes zonas, aunque sí existen mecanismos de acoplamiento energético entre los diferentes sitios de unión (145, 149, 150).

3. Factores fisiopatológicos que modifican la fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas

La fijación de fármacos y otras sustancias a las proteínas plasmáticas depende de la concentración de proteínas fijadoras y de ligandos, de la constante de afinidad de la droga por las proteínas y de condiciones fisiopatológicas y/o presencia de compuestos capaces de modificar la interacción droga-proteína. Por tanto en las alteraciones de dicha unión pueden estar implicadas las proteínas fijadoras, las drogas, o las condiciones requeridas para la unión (45).

a) Modificaciones en las proteínas del plasma :

Estos cambios sólo afectan la cinética de las drogas que muestran una afinidad lo suficientemente fuerte por su proteína transportadora. Este es el caso de drogas débilmente ácidas que se fijan a la albúmina y poseen un bajo volumen aparente de distribución, de la digitoxina, y de ciertas drogas básicas como clorpromacina e imipramina que se unen a lipoproteínas (5, 21, 28, 29, 151).

Entre las modificaciones en las proteínas del plasma destacan :

1) Hipoalbuminemia : caracterizada por un des-

censo en la concentración plasmática de albúmina. Este descenso puede ser absoluto (disminución en la síntesis, excesiva eliminación renal, fecal o cutánea, aumento en el catabolismo) o relativo (aumento de la cantidad de plasma y/o de los volúmenes intersticiales, o bien difusión de la albúmina a los tejidos). Las alteraciones más frecuentes asociadas con hipoalbuminemia son: quemaduras, cáncer, insuficiencia cardíaca, enteropatías, procesos inflamatorios, enfermedades hepáticas, síndrome nefrótico, deficiencias nutricionales, embarazo, insuficiencia renal, trastornos endocrinos, sepsis, cirugía, "stress", edad avanzada, etc.

La disminución de la concentración de albúmina provoca un descenso en la cantidad de droga fijada (sobre todo si ésta se fija fuertemente y en un número limitado de sitios de unión) y por tanto un aumento en la fracción libre. Este aumento de la fracción libre será temporal si no hay cambios en el aclaramiento del fármaco, e irá seguido de un descenso compensador en la concentración total de la droga, ya que la tasa de metabolización del fármaco será mayor por ser proporcional a la concentración de droga libre. Por tanto la relación entre nivel plasmático total (descendido) y efectos clínicos estará alterada (152). El nivel de droga libre

es primero alto, pero después se normaliza.

Si por cualquier motivo se produjera un descenso en el aclaramiento, entonces, en lugar de una caída compensatoria de la concentración total a consecuencia del descenso en la fracción fija, la concentración total permanecerá igual o aumentada y la fracción libre crecerá. Esto puede ocasionar un aumento en los efectos clínicos o la aparición de toxicidad con concentraciones "normales" de droga en plasma (153). Además, estos efectos pueden potenciarse cuando se administran simultáneamente a un paciente con hipalbuminemia dos fármacos que se fijan en el mismo lugar. Tal es el caso del uso combinado de furosemina y clofibrato en el síndrome nefrótico (154), que utilizados a dosis terapéuticas provocan una marcada potenciación de los efectos tóxicos: gran reducción del potasio sérico y disturbios musculares (con aumento de la CPK).

2) Alteraciones en la distribución de la albúmina en los distintos compartimentos líquidos:

En ciertos estados patológicos hay un aumento en la concentración de albúmina en el líquido intersticial (con o sin aumento en su correspondiente volumen) a expensas del compartimento plasmático. Dos mecanismos pueden ser los responsables de ello:

.- aumento unidireccional de la permeabilidad de

las membranas que separan el plasma del líquido intersticial, hecho que ocurre por ejemplo en estados inflamatorios, embarazo, tratamiento con anticonceptivos orales, diabetes, shock séptico, etc.

.- déficit en la circulación de retorno desde el líquido intersticial al plasma, principalmente por bloqueo en la circulación linfática, por lo cual el equilibrio dinámico de la albúmina entre ambos compartimentos queda desplazado a favor del líquido intersticial. Esto ocurre principalmente en obstrucciones neoplásicas, ventilación artificial, shock cardiogénico, edema pulmonar, etc.

3) Descenso en la afinidad de la albúmina : En la insuficiencia renal crónica o por ejemplo, en la cirrosis hepática, está reducida la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas, pero este hecho es sólo parcialmente explicable por la hipoalbuminemia y por la presencia de inhibidores endógenos de la fijación. Es probable que en estos casos una modificación en la estructura molecular de la albúmina, que provoque un cambio en la afinidad de ella por las drogas, pueda ser otro factor a tener en cuenta en la explicación del descenso del "binding" (51, 155).

4) Otros factores : Un descenso en la concentración plasmática de lipoproteínas ocasiona una po-

tenciación del efecto de los fármacos que se fijan a ellas (drogas lipófilas y todas las drogas básicas en general). (21, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 36, 151, 156, 157, 158). Sin embargo en algunos tipos de hiperlipemia, las drogas lipofílicas ejercen menos efectos que en sujetos normales. Esto puede deberse a cambios en la estructura de las lipoproteínas circulantes que provoquen una alteración en la cantidad de droga fijada (159).

Otro factor a tener en cuenta es la posibilidad de variaciones en la alfa-1-glicoproteína ácida. Esta proteína plasmática interviene activamente en el transporte de determinadas drogas, en particular de las de naturaleza básica (19, 20, 22, 26, 34, 37, 160, 161), como quinidina, imipramina, vinblastina (162), etc. . Existen procesos patológicos que cursan con aumento de esta proteína (38, 163, 164, 165, 166, 167) :

- .- situaciones de alarma fisiológica en general
- .- infarto de miocardio
- .- procesos quirúrgicos
- .- enfermedades inflamatorias crónicas
- .- cáncer
- .- síndrome doloroso crónico
- .- traumatismos

En ellos se observa una elevación del grado de

fijación para diversos fármacos de tipo básico.

Otros autores han encontrado un aumento de fijación de fármacos básicos a edades avanzadas (al contrario que los de tipo ácido), debido al alza en los niveles plasmáticos de esta proteína (56, 57, 58, 59, 60).

b) Modificaciones del grado de ionización del fármaco y de la proteína :

Si el pH sanguíneo se altera esto provocará un cambio en el grado de ionización de la droga, que puede seguirse de una modificación en la distribución tisular de ésta (aumentada cuando la ionización disminuya y viceversa).

De este modo, por ejemplo en acidosis las drogas ácidas pasarán más fácilmente a los tejidos ya que estarán menos ionizadas.

Simultáneamente la fijación a proteínas puede modificarse tanto cualitativa como cuantitativamente. Así por ejemplo, en alcalosis las drogas ácidas como las sulfamidas se cargan negativamente, lo cual añade una atracción electrostática a la fijación droga-proteína aumentando por tanto la afinidad entre ambas.

c) *Concentración del fármaco :*

Para soluciones con una concentración constante de albúmina, el porcentaje de fijación de un fármaco se modifica según varíe su concentración. Si la concentración es tal que satura todas las áreas de unión a la molécula de albúmina, el porcentaje de fármaco fijado disminuirá gradualmente conforme aumentemos más la concentración.

No todos los sitios de unión de la albúmina tienen la misma capacidad de saturación. La warfarina satura los receptores a concentraciones relativamente bajas, mientras que otros fármacos no lo consiguen a dosis considerablemente mayores.

Pueden establecerse dos grupos de fármacos, según su capacidad de saturación o no de los lugares de fijación a dosis terapéuticas y la posibilidad de aparición de fenómenos de desplazamiento (29, 45, 168) :

.- Fármacos con posibilidad de saturación de los lugares de unión a la albúmina y fenómenos de desplazamiento (a dosis terapéuticas) :

- . anticoagulantes orales
- . antiinflamatorios no esteroideos, principalmente salicilatos, indometacina, fenilbutazona
- . benzodiazepinas, en particular diazepam, car-

- bamacepina, clordiacepóxido
- . penicilinas : penicilina G, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina
- . sulfamidas y tetraciclinas, principalmente metacilina, minocilina y clortetraciclina
- . uricosúricos : sulfinpirazona y probenecid
- . otros : ácido clorofenoisobutírico (metabolito del clofibrato), ácidos fusídico y nalidíxico, lincomicina, etc.

Este grupo de fármacos coincide en líneas generales con aquellos que se fijan en las áreas de indoles y benzodiacepinas, y warfarina, dentro de la clasificación de Fehske (118).

.- Fármacos con dificultad de saturación de los lugares de fijación a dosis terapéuticas :

- . inhibidores beta-adrenérgicos, por ejemplo el propanolol
- . neurolépticos fenotiazínicos, por ejemplo la clorpromazina
- . antidepresivos tricíclicos como amitriptilina e imipramina
- . analgésicos centrales : morfina y derivados
- . otros : digoxina, rifampicina ...

El uso de estos fármacos implica menos riesgo de aparición de fenómenos de competición o desplazamiento con otros. Ello se debe a que presentan va-

rios sitios de unión (incluso en distintos tipos de proteínas) con una afinidad más débil.

d) *Competición entre drogas y otros ligandos :*

Otras sustancias pueden competir con el fármaco por los mismos lugares de fijación en la molécula de albúmina, y de acuerdo con la ley de acción de masas sus efectos serán proporcionales a la concentración y a la constante de afinidad. Sustancias fisiológicas, que en determinadas circunstancias pueden estar elevadas, provocan fenómenos de competición :

.- ácidos grasos libres : se ha observado que los ácidos grasos no esterificados (principalmente el oleico) compiten con el diacepán (72, 136, 140, 141, 142, 143) . También se ha comprobado (169) disminución en la fijación de diacepán en diabéticos debido al elevado nivel plasmático de ácidos grasos no esterificados y a la unión covalente de la glucosa con la albúmina, que satura lugares de fijación, y además fuertemente (debido a la gran estabilidad del enlace covalente).

.- bilirrubina : hay competición con fenilbutazona, sulfamidas, ácidos grasos, y otros fármacos (51, 65, 68, 70, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132).

.- hormonas : como estrógenos o tiroxina.

Los competidores también pueden ser sustancias

que aparezcan en ciertos estados patológicos (170, 171, 172), por ejemplo el cianato presente en situaciones de uremia produce una carbamilación de la molécula de albúmina, reduciendo su grado de afinidad para diversas drogas (155, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179).

Otros fenómenos de competición pueden ocasionar los los propios metabolitos del fármaco que compiten por los mismos lugares de fijación que la droga original, o bien otros fármacos, como por ejemplo la interacción entre warfarina y fenilbutazona (107, 108) que puede dar lugar a la aparición de fenómenos hemorrágicos por aumento de la fracción libre de la primera.

Estos fenómenos de desplazamiento son frecuentes para fármacos de tipo ácido. No obstante también ocurren en fármacos unidos a la alfa-1-glicoproteína ácida, por ejemplo el desplazamiento de la tioridazina en presencia de propanolol.

El fármaco desplazante puede unirse en los mismos puntos que el desplazado, pero también es posible que actúe induciendo cambios en la conformación de la albúmina, alterando el número de puntos de unión, la afinidad de ellos o ambas cosas. Así por ejemplo, el ácido acetilsalicílico altera la unión de otros fármacos a la albúmina porque provoca una acetila-

ción de la lisina residual en la molécula de esta proteína (180).

El desplazamiento de la unión a proteínas de un fármaco por otro tendrá unas consecuencias clínicas relevantes cuando se trate de fármacos que se unen en alta proporción a las proteínas, que tengan un volumen aparente de distribución pequeño y un estrecho margen terapéutico. Por otra parte, el fármaco desplazado no permanece confinado en la circulación sino que rápidamente se distribuye en el organismo y se localiza en los tejidos. Tras esta redistribución, el incremento en la concentración de fármaco libre en plasma y en los líquidos extracelulares dependerá de su volumen aparente de distribución.

Las interacciones debidas a desplazamiento en la unión a proteínas adquieren mayor trascendencia en situaciones clínicas de hipoalbuminemia e insuficiencia hepática o renal.

e) Otros factores :

1) Diferencias interindividuales : son muy numerosas y se centran en aspectos raciales y ambientales, detectándose variaciones en el grado de fijación de fármacos a las proteínas entre individuos de una misma familia e incluso entre gemelos (39, 40, 41).

La fijación de diacepán parece ser menor en mujeres con respecto a los hombres (39, 44), posiblemente por diferencias en los niveles de ácidos grasos libres.

La ingesta de anticonceptivos orales disminuye el grado de fijación del ácido salicílico (42, 181) con respecto a las mujeres que no los toman.

Abel y cols. (39) señalan la existencia de cambios en la fijación de diacepán y otros fármacos en un mismo individuo según el ritmo circadiano de secreción de ácidos grasos.

2) Embarazo : la mujer embarazada muestra disminución en el grado de fijación de diversas drogas (42, 43, 142, 143, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187) como diacepán, fenitoina, sulfisoxazol, ácido salicílico, etc. , principalmente en estadios avanzados de la gestación. Esto se atribuye a la creciente hipoalbuminemia que se produce a lo largo del embarazo, pero también al aumento en la concentración de ácidos grasos libres (sobre todo en lo que al diacepán se refiere) y a la posible presencia de inhibidores endógenos quizá como consecuencia del disturbio endocrino existente.

La concentración de alfa-1-glicoproteína ácida y la fijación del propanolol no presentan alteraciones en el embarazo.

3) Edad : en la vejez se han detectado variaciones en la fijación de fármacos tanto de naturaleza ácida como básica (44, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 89, 90, 188). En general las drogas ácidas presentan una fijación disminuida principalmente debido a la frecuente hipoalbuminemia que aparece en edades avanzadas. En los fármacos de naturaleza básica se observa a menudo un aumento en su grado de fijación generalmente a causa del incremento en la concentración de alfa-1-glicoproteína ácida.

En lo que se refiere a edades más tempranas de la vida, hay evidencias de que la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas es menor en el R. N. que en el adulto (55, 62, 63, 67, 72, 132, 182, 185, 189, 190, 191) debido generalmente a una ligera hipoproteinemia y al efecto competitivo principalmente de la bilirrubina y los ácidos grasos libres, cuyas concentraciones se incrementan de forma importante varios días después del parto a causa de la hemólisis fisiológica y de la movilización de reservas energéticas.

No obstante, en la literatura hay reflejados algunos datos contradictorios. Por ejemplo Crawford (181) señala un menor grado de fijación del salicilato en el plasma de la embarazada que en el de cordón umbilical ; Herngren (185) encuentra una

fijación mayor de cloxacilina en el R.N. que en la madre, invirtiéndose esta situación tras la primera semana de vida, disminuyendo el grado de fijación en el R. N. probablemente a causa del incremento en las tasas de bilirrubina, y aumentando en la madre, que va recuperando sus cifras de proteinemia a la vez que descienden las de ácidos grasos libres (que suelen estar elevadas al final del embarazo). Deep (citado en 182) no halla diferencias en la fijación de meticilina y dicloxacilina entre madre e hijo. Chignell (citado en 182) observa el mismo grado de fijación en plasma fetal, neonatal y adulto, tras separar los aniones endógenos fijados. Ganaphaty (citado en 182) no constata diferencias cualitativas entre la fijación de fármacos a la albúmina de cordón y de sangre adulta.

IV. MATERIAL Y METODOS

1. Selección de los casos

La obtención de muestras de sangre fetal de diferentes edades gestacionales se llevó a cabo recogiendo los cordones umbilicales de partos producidos en el Servicio de Obstetricia del Hospital Clínico Universitario, así como del Hospital Materno-infantil de Granada, durante los años 1987 y 1988.

De cada cordón umbilical se extraía la mayor cantidad posible de sangre (8 ml como mínimo) para poder realizar los estudios de fijación "in vitro" y las determinaciones analíticas (proteinograma y ácidos grasos libres).

De todas las muestras obtenidas se seleccionaron un total de 56 para el estudio de la fijación de sulfisoxazol, diacepán y digitoxina a las proteínas plasmáticas.

De ellas, 30 pertenecían a fetos nacidos a término, es decir con una edad gestacional comprendida entre 37 y 42 semanas (259-294 días); 12 correspondían a pretérmino (edad gestacional menor de 37 semanas) y 14 eran de postmaduros (edad gestacional mayor de 42 semanas).

El número de pre y postmaduros, aunque suficiente, no pudo ser mayor debido a varias razones :

.- la afortunadamente baja incidencia actual de

partos de este tipo, gracias a la disponibilidad de fármacos tocolíticos en el primer caso, y a la inducción del parto en aquellos embarazos en vías de prolongación, en el segundo.

.- la realización de otros estudios en sangre de cordón, y por tanto, la necesidad de compartir el material existente con otros investigadores.

.- la escasa cantidad de sangre presente a veces en el cordón, de la que además, una parte se empleaba para las determinaciones de gases y pH, indispensables en una buena asistencia neonatal.

.- la obligación de desechar aquellos casos que no se ajustaban a los criterios de selección.

En lo que se refiere a este punto, cabe decir que se incluyeron en el estudio aquellos fetos que no presentaban alteraciones fisiopatológicas (excepto, obviamente, las debidas a la inmadurez de los prematuros), ni sufrimiento fetal intraparto grave, hecho éste controlado por el aspecto del líquido amniótico, la frecuencia cardíaca fetal, la gasometría y pH y el índice de Apgar.

La ictericia era, por supuesto, causa de exclusión inmediata, así como la incompatibilidad de grupo materno-fetal.

Tampoco eran incluidos los casos en que la madre

padeció durante el embarazo alguna enfermedad grave (sobre todo hepática o renal), tenía alguna drogodependencia o recibió medicación como digitálicos, sulfamidas, tranquilizantes, u otros fármacos con gran afinidad por la albúmina (antiinflamatorios, anticoagulantes, etc.) que pudieran competir con las drogas experimentadas en el estudio de fijación.

Otro factor que se ha tenido en cuenta ha sido la relación entre peso al nacer y edad gestacional, procurando que en la mayoría de los casos el primero fuese adecuado o se desviara lo menos posible. Para ello se emplearon las tablas de adecuación del Servicio de Obstetricia de Hospital Clínico Universitario de Granada. Un ejemplo de este tipo de gráficas, tomado de Cruz (192), se muestra en la figura 29. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

	<u>Bajo Peso</u>	<u>Peso Adecuado</u>	<u>Alto Peso</u>
Pretérmino	1	11	0
A Término	0	23	7
Postmaduros	1	11	2

Es preciso señalar que incluso los que presentan desviación lo hacen muy ligeramente. (Tablas I, II y III; Fig. 29).

Toda la información comentada anteriormente se obtuvo tras el análisis exhaustivo de las historias clínicas de la madre y del R. N., completándose en cada caso la siguiente hoja de recolección de datos :

1. Datos de la madre :

Nombre y apellidos
Número de Historia clínica
Edad
Enfermedades hepáticas
Enfermedades renales
Otra patología
Tabaco
Alcohol
Otras drogodependencias
Medicación durante el embarazo
Antecedentes personales y familiares
Otros datos

2. Datos del R. N. :

Apellidos
Número de registro
Sexo
Peso al nacer
Edad gestacional
Ictericia
Malformaciones
Otras alteraciones

3. Datos del parto :

Fecha
Tipo y presentación fetal
Riesgo perinatal
Sufrimiento fetal intraparto :
- rotura de membranas
- líquido amniótico
- eliminación de meconio
- F.C.F.
Gasometría y pH
Apgar
Analgesia
Medicación
Otros

2. Tratamiento de las muestras

Una vez producido el parto y tomadas del cordón umbilical las muestras necesarias para la analítica solicitada por el Servicio, nosotros extraíamos el resto de la sangre del cordón (necesitándose como mínimo 8 ml de cada caso, lo cual no siempre era posible).

Posteriormente se procedía a su centrifugación en centrífuga refrigerada Beckman durante 15 minutos a 3.000 r.p.m., obteniéndose al menos 3 ml de suero, que era depositado en un tubo de ensayo cerrado almacenándose en una cámara frigorífica con temperaturas de congelación, hasta reunir la totalidad de las muestras.

El proceso de recogida y almacenamiento de las muestras de sangre se prolongó durante más de un año debido a las dificultades anteriormente reseñadas, y se simultaneaba con la cumplimentación de la hoja de recolección de datos, ya descrita, que sirvió para excluir aquellos casos que no cumplieran las condiciones exigidas.

3. Determinaciones analíticas

Una vez reunidas y seleccionadas todas las muestras de suero se procedió a su descongelación, tomándose a continuación 0,2 ml de cada una de ellas para la realización del proteinograma y otros 0,2 ml para la determinación de ácidos grasos libres. Ambas pruebas se realizaron en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de Granada, utilizándose el sistema de electroforesis SPE Paragon y el densitómetro Praise Data Network Beckman para el proteinograma, y el test colorimétrico NEFAC-Waco para los ácidos grasos libres.

El resto de cada muestra de suero (2,9 ml como mínimo), se emplearía para la determinación de la fracción libre de sulfisoxazol, diacepán y digitoxina.

Para estudiar la fijación de fármacos a proteínas plasmáticas, el método utilizado en todos los casos fue el de Ultrafiltración, que consiste en la centrifugación de las muestras de suero (con una concentración conocida de fármaco) depositadas en cápsulas MPS-1 AMICON. Estas cápsulas contienen una membrana capaz de separar un ultrafiltrado libre de proteínas, donde únicamente habrá fármaco libre. Se toma una cierta cantidad de dicho ultrafiltrado y se

le aplican distintas técnicas según el fármaco a medir [Reacción de Bratton-Marshall (193) para el sulfisoxazol , Espectrometría de centelleo para el diacepán y la digitoxina] , comparando los resultados obtenidos (Absorbancia o C.P.M.) en las curvas standard realizadas previamente para cada fármaco. Así se obtiene el porcentaje de fármaco libre para cada muestra y por tanto, de forma indirecta, la fracción de fármaco fijada a las proteínas plasmáticas.

a) *Curva Standard de Sulfisoxazol (Fig. 1)*

Se confecciona a partir de los valores de Absorbancia medidos en el espectrofotómetro, correspondientes a distintas concentraciones de fármaco. Esta curva patrón servirá de base para calcular posteriormente la fracción libre de sulfisoxazol en las muestras de suero.

1) Reactivos :

.- soluciones de sulfisoxazol (Sigma) disueltas en hidróxido sódico 0,1 N a las concentraciones de 100, 40, 20, 10, 5, 2 y 1 ug/ml

.- solución de ácido tricloroacético (Merck) al 10 %

.- solución de nitrito sódico (Merck) al 0,1 %

.- solución de amonio amido sulfonato (Merck)
al 0,5 %

.- solución de diclorhidrato de N-(1-Naftil)-etilendiamina (Merck) al 0,1 %

Todos los reactivos se conservaban en recipientes de vidrio cerrados y recubiertos con papel de aluminio, en una cámara refrigerada a 4 °C

2) Instrumental :

- .- Espectrofotómetro Beckman 3.600
- .- Agitador de tubos Heidolph
- .- tubos de ensayo y pipetas

3) Técnica :

Se prepara una disolución-madre de sulfisoxazol a una concentración de 1.000 ug/ml (por ejemplo 100 mg de sulfisoxazol disueltos en NaOH 0,1 N hasta completar 100 ml). A partir de esta disolución se realizan distintas diluciones :

A. 1 ml de solución madre + 9 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 100 ug/ml

B. 2 ml de A + 3 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 40 ug/ml

C. 2 ml de B + 2 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 20 ug/ml

D. 1 ml de C + 1 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 10 ug/ml

E. 1 ml de D + 1 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 5 ug/ml

F. 1 ml de C + 9 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 2 ug/ml

G. 1 ml de F + 1 ml de NaOH 0,1 N, obteniéndose una concentración de 1 ug/ml

Una vez preparadas las 7 diluciones de sulfisoxazol, el siguiente paso consiste en realizar la reacción de Bratton-Marshall en cada una de ellas. Para ello se toman 0,1 ml de cada solución depositándolos en distintos tubos de ensayo, a los que añadiremos los siguientes reactivos :

- .- 0,1 ml de la solución de ácido tricloroacético
- .- 0,2 ml de la solución de nitrito sódico
- .- 0,2 ml de la solución de sulfamato amónico
- .- 0,5 ml de la solución de naftiletildiamina

Después de agregar cada reactivo se agita bien, y una vez añadido el último aparecerá una coloración, más intensa cuanto mayor sea la concentración de fármaco. El color desarrollado tiene su máxima absorbancia a 546 nm, por lo que se lee en el espectrofotómetro a esta longitud de onda, y antes de una hora después de finalizada la reacción.

Efectuada la lectura, se anotan los resultados (diferentes absorbancias según la concentración de fármaco). La ecuación de la recta de regresión li-

neal calculada a partir de ellos servirá para trazar gráficamente la curva standard, y por tanto para determinar la concentración libre de sulfisoxazol en las muestras de suero, tras medir su absorbancia.

b) *Curva Standard de Diacepán (Fig. 2)*

1) Reactivos :

.- soluciones de Diacepán- C^{14} disuelto en etanol absoluto a las concentraciones de : 1,53 ; 0,765 ; 0,3825 ; 0,19125 ; 0,095625 ; 0,0478125 y 0,0095625 ug/ml.

2) Instrumental :

.- Contador de centelleo líq. Intertechnique SL30
.- frascos con líquido de centelleo
.- tubos de ensayo y pipetas

3) Técnica :

Se prepara una disolución-madre de diacepán radioactivo a una concentración de 153 ug/ml , para ello se procede de la siguiente forma :

Partimos de una disolución de diacepán - C^{14} (Amersham International) en etanol, que contiene 0,265 mg en 500 ul. Por tanto hay que añadirle 1.232 ul de etanol y tendremos 1.732 ul de disolución que contienen 265 ug de diacepán- C^{14} , resultando la concentración deseada de 0,153 ug/ul.

No obstante, esta disolución conviene "enfriarla" y por eso se le añade una solución de diacepán estable a la misma concentración (por ej. hasta completar 10 ml). La disolución de diacepán estable la preparamos pesando 15,3 mg de diacepán y disolviéndolos en etanol hasta 100 ml, resultando la concentración de 0,153 ug/ul. De esta solución estable tomamos 8,268 ml para añadirselos a los 1,732 ml de solución radioactiva, obteniendo 10 ml de disolución-madre de diacepán radioactivo ("enfriado") a una concentración de 153 ug/ml.

A partir de esta disolución-madre se realizan distintas diluciones :

A. 1 ml de solución madre + 99 ml de etanol , obteniéndose una concentración de 1,53 ug/ml

B. 1 ml de A + 1 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 0,765 ug/ml

C. 1 ml de A + 3 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 0,3825 ug/ml

D. 1 ml de A + 7 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 0,19125 ug/ml

E. 1 ml de B + 7 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 0,095625 ug/ml

F. 1 ml de C + 7 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 0,0478125 ug/ml

G. 1 ml de F + 4 ml de etanol, obteniéndose una

concentración de 0,0095625 ug/ml

Una vez preparadas las 7 diluciones de diacepán, tomamos 100 ul de cada una de ellas que son vertidos en los correspondientes frascos de líquido de centelleo (cada frasco contiene 10 ml de dicho líquido), para posterior lectura de su radioactividad en el contador de centelleo.

De cada solución se describe un número determinado de cuentas por minuto (C.P.M.), según la concentración de fármaco que posea, procediéndose seguidamente a calcular, a partir de esos resultados, la ecuación de la recta de regresión lineal o curva standard, que se empleará para determinar los valores de concentración libre de diacepán en las muestras de suero.

c) *Curva Standard de Digitoxina (Fig. 3)*

1) Reactivos :

.- soluciones de digitoxina- H^3 disuelta en etanol absoluto a las concentraciones de : 51; 25,5; 6,375; 3,1875 y 1,59375 ng/ml

2) Instrumental :

.- Contador de centelleo líquido Intertechnique
SL 30

.- frascos con líquido de centelleo

.- tubos de ensayo y pipetas

3) Técnica :

Se prepara una disolución-madre de digitoxina radioactiva a una concentración de 1,275 ug/ml , para ello se procede de la siguiente forma :

Partimos de una disolución de digitoxina- H^{32} , (New England Nuclear) en etanol que contiene 12 ug en 0,25 ml. Conviene "enfriarla" con digitoxina estable que preparamos pesando 21,59 mg de digitoxina y disolviéndolos en etanol hasta 100 ml. A continuación tomamos 1 ml de esa disolución y le añadimos 199 ml de etanol, obteniendo 200 ml de disolución en la que hay 0,2159 mg de digitoxina. De esta disolución tomamos 59,75 ml y los añadimos a la disolución radioactiva, resultando una disolución-madre de 60 ml que contiene 76,5 ug de digitoxina (12 radioactiva y 64,5 estable) y cuya concentración es, por tanto, de 1,275 ug/ml.

A partir de esta disolución-madre se realizan distintas diluciones :

A. 1 ml de solución madre + 24 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 51 ng/ml

B. 1 ml de A + 1 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 25,5 ng/ml

C. 1 ml de A + 7 ml de etanol, obteniéndose una

concentración de 6,375 ng/ml

D. 1 ml de C + 1 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 3,1875 ng/ml

E. 1 ml de D + 1 ml de etanol, obteniéndose una concentración de 1,59375 ng/ml

Tras realizar las diluciones tomamos 100 ul de cada una que se vierten en su correspondiente frasco de líquido de centelleo, para su posterior lectura en el contador de centelles líquido. De esta forma se obtienen diversos valores de cuentas por minuto (C.P.M.), según la concentración de fármaco. A partir de estos resultados se calcula la ecuación de la recta de regresión lineal o curva standard, que asocia a ambas variables (concentración de fármaco y C.P.M.) y mediante la que se hallarán los valores de concentración de fármaco libre en las muestras de suero.

d) Determinación "in vitro" de la fracción libre de sulfisoxazol en las muestras de suero

1) Reactivos :

- .- 0,9 ml de suero de cada sujeto
- .- solución madre de sulfisoxazol (1.000 ug/ml)
- .- solución de ácido tricloroacético al 10 %
- .- solución de nitrito sódico al 0,1 %

- .- solución de sulfamato amónico al 0,5 %
- .- solución de naftiletildiamina al 0,1 %

2) Instrumental :

- .- Centrífuga refrigerada Beckman J6B
- .- Espectrofotómetro Beckman 3.600
- .- Agitador de tubos Heidolph
- .- Cápsulas de ultrafiltración MPS-1 Amicon
- .- Tubos de ensayo y pipetas

3) Técnica :

A cada muestra de suero (0,9 ml) se le añaden 0,1 ml de solución de sulfisoxazol obteniéndose 1 ml de disolución sérica de sulfisoxazol a una concentración de 100 ug/ml. La muestra se introduce en una cápsula de ultrafiltrado MPS-1 Amicon para ser centrifugada a 3.000 r.p.m. durante 15 min. a 25 °C y en un rotor de 34 cm de diámetro. La cantidad de ultrafiltrado obtenida era siempre superior a 100 ul. De dicho ultrafiltrado sérico libre de proteínas (y que por tanto, contiene la fracción libre de fármaco) se toman 100 ul y se depositan en su correspondiente tubo de ensayo, procediéndose a continuación a realizar la técnica colorimétrica de Bratton-Marshall, de la misma forma que se hacía para la confección de la curva standard. Tras añadir cada reactivo se agita bien; el color desarrollado tiene su

máxima absorbancia en 546 nm, por lo que se lee en el espectrofotómetro a esa longitud de onda y antes de una hora de haber finalizado la reacción. Tras medir la absorbancia de cada solución, ésta se anotó para hallar la concentración de sulfisoxazol libre, siguiendo la ecuación de la recta de regresión de la curva standard.

e) Determinación "in vitro" de la fracción libre de diacepán en las muestras de suero

1) Reactivos :

- .- 1 ml de suero de cada sujeto
- .- solución madre de diacepán-C¹⁴ (153 ug/ml)

2) Instrumental :

- .- Contador de centelleo Intertechnique SL 30
- .- Centrífuga refrigerada Beckman J6B
- .- Cápsulas de ultrafiltración MPS-1 Amicon
- .- Frascos con líquido de centelleo
- .- Tubos de ensayo y pipetas

3) Técnica :

A cada muestra de suero (1 ml) se le añaden 20 ul de solución madre de diacepán radioactivo, obteniéndose una concentración "in vitro" de 3 ug/ml.

A continuación se procede de igual forma que con

el sulfisoxazol, es decir centrifugando las cápsulas para conseguir un mínimo de 100 ul de ultrafiltrado sérico libre de proteínas (que contiene el fármaco libre). Una vez extraídos 100 ul de cada solución de ultrafiltrado y depositados en su correspondiente frasco con 10 ml de líquido de centelleo, se medía la radiación emitida en el contador de centelleo, obteniéndose diferentes valores de cuentas por minuto para cada caso, a partir de las cuales y mediante la ecuación de la recta de la curva standard, se calculaban las concentraciones de fármaco libre correspondientes.

f) Determinación "in vitro" de la fracción libre de digitoxina en las muestras de suero

1) Reactivos :

- .- 1 ml de suero de cada sujeto
- .- solución madre de digitoxina- H^3 (1,275 ug/ml)

2) Instrumental :

El mismo que para el diacepán

3) Técnica :

A cada muestra de suero (1 ml) se le añaden 20 ul de solución madre de digitoxina radioactiva, obteniéndose una concentración sérica de 25 ng/ml.

Tras la ultrafiltración de las muestras se extraen 100 ul de ultrafiltrado de cada una, que se vierten en sus correspondientes viales de líquido de centelleo para medir su radioactividad en el contador. Los valores de C.P.M. obtenidos son convertidos en concentración de fármaco libre siguiendo la ecuación de la curva standard.

4. Método estadístico

Una vez medidos los parámetros a estudiar y obtenidos los resultados correspondientes hay que proceder a su tratamiento estadístico (194, 195) para determinar la confianza con la que pueden aceptarse las hipótesis planteadas a partir de ellos.

El estudio estadístico del comportamiento de una o varias variables en una población se lleva a cabo en una muestra de dicha población. La muestra debe ser aleatoria y lo más amplia posible para asegurar la veracidad de los resultados.

A continuación se exponen brevemente los métodos estadísticos empleados en este trabajo :

a) *Test de normalidad de D'Agostino*

Se emplea para evaluar si una variable aleatoria es compatible o no con la distribución normal.

b) *Media aritmética (\bar{X})*

Cociente de dividir la suma que los valores de la variable estadística toma en cada elemento de la muestra, por el tamaño de la muestra : $\bar{X} = \sum X_i / n$

c) *Desviación Típica o Standard de la muestra (S)*

Es la raíz cuadrada de la varianza y nos da una idea de la heterogeneidad o variabilidad de los va-

lores muestrales :

$$S = \sqrt{\frac{E (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

d) *Error Standard de la media* ($S_{\bar{X}}$)

Expresa la desviación de la variable \bar{X} (media muestral) y viene dado por la expresión S / \sqrt{n} . Cuando en un trabajo de investigación se quiere expresar el valor medio de un parámetro debe hacerse empleando la media \pm el error standard. Ello no tiene más significado que dejar libre al lector la elección del factor t_{α} que dará el intervalo de confianza real ($\mu \in \bar{X} \pm t_{\alpha} \cdot S / \sqrt{n}$), para que él mismo elija el error que desea soportar.

e) *Test de comparación de dos medias*

Consiste en aceptar o rechazar si la media de una variable aleatoria normal en una población es igual a la de otra :

$$H_0 \equiv \mu_1 = \mu_2$$

Test de dos colas

$$H_1 \equiv \mu_1 \neq \mu_2$$

En muchos casos en vez de un test de dos colas interesa más de una sola cola, con lo que la hipótesis alternativa sería $H_1 \equiv \mu_1 > \mu_2$, o bien $H_1 \equiv \mu_1 < \mu_2$, cometiéndose en este caso un error $\alpha/2$ en lugar de α al aceptar dicha hipótesis.

Para realizar este test cuando las muestras son pequeñas ($n < 30$) y la variable aleatoria sigue una distribución Normal, hay que realizar los si-

güentes pasos (Tabla XXIII) :

$$1) \text{ Hacer un test de varianzas : } H_0 = \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

$$H_1 = \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

$$F_{\text{exp}} = S_1^2 / S_2^2 \quad \text{si } S_1^2 > S_2^2 \quad \text{o bien}$$

$$F_{\text{exp}} = S_2^2 / S_1^2 \quad \text{si } S_2^2 > S_1^2$$

F_{α} se busca en la tabla de Snedecor (Tabla XXII) con $n_1 - 1$ y $n_2 - 1$ (o $n_2 - 1$ y $n_1 - 1$) grados de libertad.

Si $F_{\text{exp}} \leq F_{\alpha}$ se acepta H_0 (las varianzas son iguales).

Si $F_{\text{exp}} > F_{\alpha}$ se rechaza H_0 y por tanto se acepta que las varianzas son diferentes.

Haciendo un breve inciso, es conveniente recordar, siquiera brevemente, el concepto de significación estadística. Se dice que hay significación estadística cuando en un test de hipótesis H_0 es rechazable, es decir cuando la probabilidad de rechazar H_0 (y por tanto poder aceptar H_1), siendo H_0 cierta es pequeña ($P < 0,05$, es decir el error α es menor del 5 %).

2) Si como resultado del test anterior se ha aceptado que ambas varianzas son iguales se procederá del siguiente modo :

$$t_{exp} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

σ hay que sustituirlo por su estimador S

$$S = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

t_{α} se busca en la tabla de Student (Tabla XXI) con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad.

Si $t_{exp} \leq + t_{\alpha}$ se acepta H_0 , es decir $\mu_1 = \mu_2$

Si $t_{exp} > + t_{\alpha}$ se acepta H_1 , es decir $\mu_1 > \mu_2$

3) Si como resultado del test de varianzas resulta que ambas son diferentes, se realizará un test de Cochran :

$$t_{exp} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

t_{α} no se busca en las tablas sino que es :

$$t_{\alpha} = \frac{t_{1-\alpha} \cdot \frac{S_1^2}{n_1} + t_{2-\alpha} \cdot \frac{S_2^2}{n_2}}{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}$$

$t_{1-\alpha}$ se busca en Student con $n_1 - 1$ g.l.

$t_{2-\alpha}$ se busca en Student con $n_2 - 1$ g.l.

Si $t_{exp} \leq t_{\alpha}$ se acepta H_0 ($\mu_1 = \mu_2$)

Si $t_{exp} > t_{\alpha}$ se rechaza H_0 ($\mu_1 > \mu_2$)

f) *Coefficiente de correlación entre dos variables*

Sirve para medir si dichas variables están relacionadas entre sí de forma lineal. El coeficiente (r) puede tomar valores entre -1 y $+1$, y su valor absoluto mide el grado de asociación entre X e Y . Cuanto más se aproxime $|r|$ a 1 más ligadas estarán ambas variables y por tanto, más se ajustan a la recta de regresión lineal.

$$r = \frac{E X_i Y_i - \frac{(E X_i)(E Y_i)}{n}}{\sqrt{\left[E X_i^2 - \frac{(E X_i)^2}{n} \right] \left[E Y_i^2 - \frac{(E Y_i)^2}{n} \right]}}$$

El valor muestral de r obtenido es sólo una estimación de la correlación real, por ello hay que realizar un test para valorar si existe o no correlación real : $H_0 \equiv r = 0$ contra $H_1 \equiv r \neq 0$

Si $|r| \leq r_{\alpha}$ se acepta H_0 (no existe correlación significativa).

Si $|r| > r_{\alpha}$ se rechaza H_0 (sí existe correlación significativa).

r_{α} se busca en la tabla XXIV para los niveles de significación del 5 % o del 1% y con $n - 2$ g.l.

Si se quieren otros niveles de significación distintos a los dados en la tabla, o se tienen grados de libertad no especificados en ella, se comprueba que si H_0 es cierta entonces $t_{exp} = \sqrt{\frac{(n-2)r^2}{1-r^2}}$ si-

que una t de Student con $n - 2$ g.l. , y por tanto el test en esta forma será :

Si $t_{exp} \leq t_{\alpha}$ no existe correlación significativa

Si $t_{exp} > t_{\alpha}$ sí existe correlación significativa

g) Regresión lineal

Cuando existe correlación lineal entre dos variables, entonces tiene sentido plantear como predecir una de ellas a partir de la otra, mediante una ecuación de regresión del tipo $Y = a + bX$, que las relacione, donde a es la ordenada en el origen y b la pendiente de la recta.

El cálculo de la ecuación de regresión estimada es :

$$b = \frac{E (X_i - \bar{X}) (Y_i - \bar{Y})}{E (X_i - \bar{X})^2} \quad ; \quad a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

5. Tratamiento informático

Para la elaboración de este trabajo se han utilizado los siguientes programas y equipos informáticos :

a) *Procesamiento del texto* : realizado en un ordenador Philips MSX2 , utilizando el programa "Home-Office 2".

b) *Diseño gráfico* : realizado en un ordenador Amstrad PC 1640 Hard disk , utilizando el programa "Slide".

c) *Base de datos* : archivada en un ordenador Philips MSX2 , utilizando el programa "Home-Office 2".

d) *Cálculos estadísticos* : comprobados en un ordenador Amstrad PC 1512 Hard disk , utilizando el programa de estadística del departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de Granada.

Otro aspecto técnico reseñable es el de las diapositivas que ilustran el trabajo , realizadas con una cámara Pentax , objetivo Macroc 1:2,8 50 mm , y en película Agfa.

V. RESULTADOS

1. Proteinemia

a) *A Término* :

En los 30 casos estudiados, la tasa media de proteínas totales obtenida (Tablas I y IV) fue de $6,44 \pm 0,12$ g/100 ml , de los cuales $4,34 \pm 0,07$ g/100 ml eran de albúmina, y el resto ($2,10 \pm 0,06$ g/100 ml) correspondía a las globulinas. El cociente A/G es de $2,10 \pm 0,05$.

Estos valores se encuentran dentro de la normalidad.

b) *Prematuros* :

En los 12 casos estudiados, la tasa media de proteínas totales obtenida (Tablas II y IV) fue de $5,26 \pm 0,13$ g/100 ml , de los cuales $3,79 \pm 0,13$ g/100 ml eran de albúmina, y el resto ($1,47 \pm 0,08$ g/100 ml) correspondía a las globulinas. El cociente A/G es de $2,76 \pm 0,32$.

Estas cifras son algo más bajas, principalmente las de globulinas, que las consideradas normales en el adulto ($6,5-8,7$ g/100 ml para las proteínas totales, y $3,8-4,4$ g/100 ml para la albúmina).

c) *Postmaduros* :

En los 14 casos estudiados, la cifra media de

proteínas totales obtenida (Tablas III y IV) fue de $6,61 \pm 0,15$ g/100 ml , de los que $4,39 \pm 0,10$ g/100 ml correspondían a la albúmina , y el resto ($2,22 \pm 0,10$ g/100 ml) a las globulinas. El cociente A/G es de $2,01 \pm 0,08$.

Estos valores se hallan dentro de la normalidad.

Hay que tener en cuenta que al preparar las muestras para determinar la fracción libre de los 3 fármacos, se produce una pequeña dilución (un 10 % en el caso del sulfisoxazol y un 1,96 % en el caso de diacepán y digitoxina), por lo que la concentración de proteínas con la que se ha trabajado es algo más baja. Por ello , en todos los cálculos referentes al sulfisoxazol se han utilizado cifras de proteínas menores en un 10 % a las que figuran en las tablas.

d) Análisis estadístico :

Hay diferencias llamativas en las tasas de albúmina de los 3 grupos estudiados (Tablas IV y XV ; Fig. 4).

Las cifras de albuminemia son significativamente menores ($P < 0,001$) en los prematuros que en los a término. Igualmente, las cifras de albuminemia son también significativamente menores ($P < 0,001$) en los prematuros que en los postmaduros.

En cambio, entre el grupo de fetos a término y el de postmaduros no hay diferencias estadísticamente significativas (P n. s.) en cuanto a sus cifras de albúmina plasmática.

Por último, la albuminemia se correlaciona linealmente con la edad gestacional ($r = 0,473$; $P < 0,001$), siguiendo la ecuación $Y = 1,46 + 1,005 \cdot 10^{-2} X$, que expresa un incremento de la proteína a medida que la edad gestacional es mayor. (Figs. 5 y 6).

2. Acidos Grasos Libres

La determinación de las cifras de ácidos grasos libres dio los siguientes resultados (Tablas I, II, III y IV) :

$0,38 \pm 0,03$ meq/l en el grupo de fetos a término; $0,42 \pm 0,07$ meq/l en el de prematuros, y $0,44 \pm 0,05$ meq/l en los postmaduros. Cifras todas ellas comprendidas en el rango considerado normal ($0,1 - 0,6$ meq/l).

Como puede verse en la tabla IV y en la figura 7, las diferencias son pequeñas, y así lo confirmó el análisis estadístico no encontrándose significación, lo que obliga a aceptar que las tasas medias de ácidos grasos libres son semejantes en los 3 grupos de

edad.

Tampoco presentan correlación estadísticamente significativa con ninguna de las siguientes variables : edad gestacional, albúmina, sulfisoxazol libre, diacepán libre o digitoxina libre.

3. Fijación "in vitro" de sulfisoxazol

a) *A Término :*

En los 30 casos estudiados la tasa media de sulfisoxazol libre obtenida (Tablas V y XIV) fue de $15,49 \pm 0,51 \%$, mientras que el índice moles de sulfisoxazol unido / mol de albúmina fue de $56,20 \cdot 10^{-2} \pm 0,82 \cdot 10^{-2}$.

b) *Prematuros :*

En los 12 casos estudiados la tasa media de sulfisoxazol libre obtenida (Tablas VI y XIV) fue de $23,31 \pm 1,56 \%$, mientras que el índice moles de sulfisoxazol unido / mol de albúmina fue de $58,65 \cdot 10^{-2} \pm 2,25 \cdot 10^{-2}$.

c) *Postmaduros :*

En los 14 casos estudiados la tasa media de sulfisoxazol libre obtenida (Tablas VII y XIV) fue de $13,97 \pm 0,52 \%$, mientras que el índice moles de

sulfisoxazol unido / mol de albúmina fue de $56,51 \cdot 10^{-2} \pm 1,03 \cdot 10^{-2}$.

d) *Análisis estadístico :*

Hay diferencias llamativas en las cifras de sulfisoxazol libre de los 3 grupos estudiados (Tablas XIV y XV ; Fig. 9).

Las tasas de fármaco libre son significativamente mayores ($P < 0,001$) en los prematuros que en los fetos a término. Igualmente, también son mayores en los prematuros que en los postmaduros ($P < 0,001$).

En cambio, las diferencias entre postmaduros y a término no alcanzan la significación ($P > 0,05$).

Por otra parte, el sulfisoxazol libre se correlaciona fuertemente con la edad gestacional ($r = -0,637$; $P < 0,001$) siguiendo la ecuación $Y = 56,995 - 14,569 \cdot 10^{-2} X$, que expresa una disminución del fármaco libre cuanto mayor es la edad gestacional (Figs. 10 y 11).

Asimismo (Fig. 8), el sulfisoxazol libre se correlaciona con la albuminemia ($r = -0,503$; $P < 0,001$), siguiendo la ecuación $Y = 39,719 - 6,015 X$, que expresa una disminución del fármaco libre cuanto mayor es la concentración de albúmina.

El grado de correlación entre sulfisoxazol libre y albúmina, con ser fuerte, es sin embargo menor que

el establecido entre sulfisoxazol libre y edad gestacional.

Por lo que se refiere al índice moles de sulfisoxazol unido / mol de albúmina (Tabla XIV), las diferencias entre los 3 grupos son pequeñas. El hecho de que el grupo de prematuros tenga un índice algo superior (aunque no estadísticamente significativo) al de postmaduros y a término, se explica por la hipoalbuminemia que este grupo presenta con respecto a los otros dos.

4. Fijación "in vitro" de diacepán

a) A Término :

En los 30 casos estudiados la tasa media de diacepán libre obtenida (Tablas VIII y XIV) fue de $2,59 \pm 0,06 \%$, mientras que el índice moles de diacepán unido / mol de albúmina fue de $14,29 \cdot 10^{-3} \pm 0,23 \cdot 10^{-3}$.

b) Prematuros :

En los 12 casos estudiados la tasa media de diacepán libre obtenida (Tablas IX y XIV) fue de $3,44 \pm 0,22 \%$, mientras que el índice moles de diacepán unido / mol de albúmina fue de $16,26 \cdot 10^{-3} \pm 0,52 \cdot 10^{-3}$.

c) *Postmaduros* :

En los 14 casos estudiados la tasa media de dia-
cepán libre obtenida (Tablas X y XIV) fue de
 $2,68 \pm 0,10 \%$, mientras que el índice moles de dia-
cepán unido / mol de albúmina fue de $14,10 \cdot 10^{-3} \pm$
 $0,31 \cdot 10^{-3}$.

d) *Análisis estadístico* :

Existen diferencias llamativas en las cifras de
diacepán libre de los 3 grupos estudiados (Tablas
XIV y XV ; Fig. 13).

Las tasas de fármaco libre son significativamente
mayores ($P < 0,01$) en los prematuros que en los
fetos a término. Igualmente, también son mayores en
los prematuros que en los postmaduros ($P < 0,01$).

En cambio, entre postmaduros y a término no hay
diferencias estadísticamente significativas (P n.
s.) en cuanto a sus cifras de diacepán libre.

Por otra parte, el diacepán libre se correlaciona
linealmente con la edad gestacional ($r = - 0,548$;
 $P < 0,001$) siguiendo la ecuación $Y = 6,845 - 1,467 \cdot$
 $10^{-2} X$, que expresa una disminución del fármaco li-
bre cuanto mayor es la edad gestacional (Figs. 14
y 15).

Del mismo modo (Fig. 12), el diacepán libre se

correlaciona con la albuminemia ($r = - 0,390$; $P < 0,01$) , siguiendo la ecuación $Y = 4,877 - 4,917 \cdot 10^{-1} X$, que expresa una disminución del fármaco libre cuanto mayor es la concentración de albúmina. La potencia de esta asociación es bastante menor que la establecida entre diacepán libre y edad gestacional.

Por lo que se refiere al índice moles de diacepán unido / mol de albúmina (Tabla XIV) hay que decir que es mayor en los prematuros ($P < 0,01$) que en los otros dos grupos (en los que practicamente es idéntico). Este resultado se explica por la hipoalbuminemia relativa que el grupo de prematuros presenta con respecto a los otros dos grupos de edad.

5. Fijación "in vitro" de digitoxina

a) *A Término* :

En los 30 casos estudiados la tasa media de digitoxina libre obtenida (Tablas XI y XIV) fue de $2,79 \pm 0,09 \%$, mientras que el índice moles de digitoxina unida / mol de albúmina fue de $44,22 \cdot 10^{-6} \pm 0,71 \cdot 10^{-6}$.

b) *Prematuros* :

En los 12 casos estudiados la tasa media de digitoxina libre obtenida (Tablas XII y XIV) fue de

$3,27 \pm 0,18 \%$, mientras que el índice moles de digitoxina unida / mol de albúmina fue de $50,50 \cdot 10^{-6} \pm 1,60 \cdot 10^{-6}$.

c) Postmaduros :

En los 14 casos estudiados la tasa media de digitoxina libre obtenida (Tablas XIII y XIV) fue de $2,72 \pm 0,11 \%$, mientras que el índice moles de digitoxina unida / mol de albúmina fue de $43,71 \cdot 10^{-6} \pm 0,95 \cdot 10^{-6}$.

d) Análisis estadístico :

Hay diferencias llamativas en las cifras de digitoxina libre en los 3 grupos estudiados (Tablas XIV y XV ; Fig. 17).

Las tasas de fármaco libre son significativamente mayores ($P < 0,02$) en los prematuros que en los fetos a término. Igualmente, también son mayores en los prematuros que en los postmaduros ($P < 0,05$).

En cambio, las diferencias entre postmaduros y a término no son estadísticamente significativas (P n. s.) en cuanto a sus cifras de digitoxina libre.

Por otra parte (Figs. 18 y 19), la digitoxina libre se correlaciona con la edad gestacional ($r = -0,296$; $P < 0,05$) , aunque ciertamente, con mucha menos potencia a como lo hacían los otros dos fárma-

cos. La ecuación de regresión es $Y = 5,037 - 7,836 \cdot 10^{-3} X$, que expresa una disminución del fármaco libre cuando aumenta la edad gestacional.

Existe también correlación ($r = - 0,276$; $P < 0,0$) entre la fracción libre de digitoxina y las tasas de albuminemia (Fig. 16), aunque el grado de asociación es menor que el anterior y que el presentado por los otros dos fármacos. La ecuación de regresión es $Y = 4,331 - 3,438 \cdot 10^{-1} X$, que expresa una disminución del fármaco libre cuanto mayor es la concentración de albúmina.

En lo que se refiere al índice moles de digitoxina unida / mol de albúmina (Tabla XIV) encontramos que es mayor ($P < 0,01$) en los prematuros que en los otros dos grupos de edad (entre los que apenas hay diferencia). Este resultado es explicable por la hipoalbuminemia relativa que presentan los prematuros con respecto a postmaduros y a término.

VI. DISCUSSION

1. Proteínas plasmáticas

El análisis de los resultados obtenidos en este parámetro, pone de manifiesto un incremento paulatino de las proteínas totales y de la albúmina a medida que la edad gestacional va aumentando (Figs. 4, 5 y 6), correlacionándose linealmente. Esta evolución creciente coincide plenamente con lo descrito en la literatura (196), donde se establece que las tasas de albúmina alcanzan los niveles medios del adulto en torno a los 12 meses de vida.

De los 3 grupos estudiados, el de prematuros presenta hipoproteïnemia, mientras que los fetos a término y postmaduros tienen unas cifras de proteínas que se encuentran en el límite inferior del intervalo considerado normal.

2. Acidos Grasos Libres

Los niveles de ácidos grasos libres se mantienen estables en los distintos grupos estudiados, sin que se hayan podido encontrar, por consiguiente, variaciones susceptibles de correlacionar con la edad gestacional (Fig. 7).

Por otra parte, las tasas aquí encontradas coin-

ciden con los niveles considerados fisiológicos en el adulto. El hecho de que en la bibliografía consultada se hable de un aumento en los niveles de ácidos grasos libres como un factor determinante de la disminución de la fijación de los fármacos a la albúmina en el neonato, debe entenderse tras varios días después del parto, cuando se produce la movilización de las reservas grasas, con una finalidad energética, y no antes.

Por tanto creemos que la incidencia de este parámetro en nuestro estudio es escasa, dado que, en cualquier caso, no hemos encontrado diferencias significativas a lo largo de las distintas edades estudiadas.

3. Fijación "in vitro" de sulfisoxazol

La fijación de sulfisoxazol es notablemente distinta a la observada en el adulto, y además existe una evolución edad y albúmina dependiente en la totalidad de casos estudiados.

Así, mientras que la fracción libre de sulfisoxazol en el adulto es del orden del 7 % [García Morillas y cols. (51)], en el feto a término asciende a más del 15 %, en el prematuro se alcanzan

cifras superiores al 23 % , y de alrededor del 14 % en los postmaduros.

Llama la atención la importante diferencia existente entre el grupo de prematuros y los dos restantes, no suficientemente explicada por los distintos niveles de albúmina.

Por último, también es de destacar que el grado de correlación entre sulfisoxazol libre y albúmina (Fig. 8) es menor que el establecido entre sulfisoxazol libre y edad gestacional (Figs. 9, 10 y 11) .

4. Fijación "in vitro" de diacepán

A diferencia de lo observado con el sulfisoxazol, las tasas de diacepán libre en los sujetos aquí estudiados, se asemejan más a las encontradas en el adulto (51), cuyos valores son del orden del 3 % .

Así, mientras en el grupo de prematuros oscilan alrededor de un 3,5 % , los postmaduros y a término presentan cifras de un 2,5 % aproximadamente.

Si comparamos las tasas de diacepán libre con la edad gestacional (Figs. 13, 14 y 15) , se observa una fuerte correlación. Las diferencias mayores se presentan entre el grupo de prematuros con los otros

dos, no existiendo apenas entre estos últimos.

La correlación entre la fracción libre de diacepán y las tasas de albúmina es menos marcada que en el caso del sulfisoxazol, y también es menos potente que la establecida con la edad gestacional.

Los fenómenos de desplazamiento y la interacción de los ácidos grasos libres con el "locus" del diacepán no se han evidenciado ya que los niveles de ácidos grasos libres son normales en los 3 grupos de edad.

5. Fijación "in vitro" de digitoxina

Llama la atención el hecho de que la digitoxina se fija más intensamente a las proteínas plasmáticas fetales que a las del adulto. Así, mientras que la fracción libre en el adulto sano es del 7 % (51), en la población aquí estudiada oscila entre un 3,27 % en los prematuros y un 2,72 % en los postmaturos, es decir, un comportamiento inverso al observado en el sulfisoxazol.

Como viene siendo habitual, la fracción libre de digitoxina se encuentra más elevada en el grupo de prematuros que en los dos restantes, no existiendo entre estos dos últimos diferencias significativas.

Como en el resto de fármacos estudiados, la fracción libre de digitoxina se correlaciona con la albuminemia (Fig. 16), y con la edad gestacional (Figs. 17, 18 y 19), sin embargo ambas correlaciones son mucho más débiles ($r = - 0,276$ y $r = - 0,296$ respectivamente) que las encontradas en los otros dos fármacos. Este hecho podría ser explicado por el comportamiento, hasta cierto punto irregular de la digitoxina en lo que se refiere a su fijación a las proteínas plasmáticas. De una parte, el fármaco se fija a la albúmina en un sitio de unión muy específico compartido por un número muy reducido de drogas (Tabla XX). Por otra parte la afinidad de la digitoxina por la albúmina es más débil que en el caso del diacepán y sulfisoxazol, a lo que hay que añadir su fijación a otras proteínas como las β -lipoproteínas (24).

Estos hechos unidos a la difícil saturación de los sitios de unión, se traducen en un comportamiento más irregular y en una mayor independencia entre los niveles de fracción libre de digitoxina y las tasas de albúmina.

Todo lo anteriormente expuesto, indica importantes diferencias en el grado de fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas según la edad gestacional del feto (aumentando dicha fijación, y por tanto disminuyendo la fracción libre, con la edad). (Figs. 11, 15 y 19).

Incluso la digitoxina, cuyo comportamiento es más irregular, presenta correlación significativa entre fracción libre y edad.

Sin embargo, el hecho de que la concentración de albúmina plasmática también se correlacione (de modo directo) con la edad gestacional (Fig. 6), y que a su vez, las fracciones libres de los 3 fármacos lo hagan (de modo inverso) con la albuminemia (Figs. 8, 12 y 16), puede hacer pensar que las diferencias encontradas en el grado de fijación se deben exclusivamente a las variaciones en las tasas de albúmina.

Se intuye, no obstante, que esto no es así puesto que los coeficientes de correlación entre fracción de fármaco libre y edad gestacional son más altos que los presentados entre fracción de fármaco libre y albuminemia.

Para intentar verificar que la variabilidad en la albúmina no es la única causa que explica las modificaciones en el grado de fijación, se calcularon en

primer lugar los coeficientes de correlación parcial.

Un coeficiente de correlación parcial ($r_{1-2, 3}$) expresa el grado de correlación entre las variables 1 y 2 en los individuos con igual valor de la variable 3. Con ello, al mantener constante la variable 3 sólo las variables 1 y 2 estarán contenidas en la correlación. La idea es pues medir la parte de la correlación entre las variables 1 y 2 que no es simplemente un reflejo de sus relaciones con la variable 3 (194).

El valor del coeficiente de correlación parcial es:

$$r_{1-2, 3} = \frac{r_{1-2} - (r_{1-3} \cdot r_{2-3})}{\sqrt{(1 - r_{1-3}^2)(1 - r_{2-3}^2)}}$$

La significación se comprueba en la tabla XXIV con $(n - 3)$ grados de libertad.

Los resultados de las correlaciones parciales fueron los siguientes:

a) Edad G.- Sulfisoxazol L., Albúmina

$$r_{1-2, 3} = -0,524 ; P < 0,001$$

lo que significa que la edad gestacional y el sulfisoxazol libre están fuertemente correlacionados (de modo inverso) entre ellos, independientemente de las tasas de albuminemia.

b) Edad G. - Diacepán L. , Albúmina

$$r_{1-2, a} = - 0,448 ; P < 0,001$$

lo que significa que la edad gestacional y el diacepán libre están fuertemente correlacionados (de modo inverso) entre ellos, independientemente de las tasas de albuminemia.

c) Edad G. - Digitoxina L. , Albúmina

$$r_{1-2, a} = - 0,195 ; P \text{ n. s.}$$

lo que significa que no existe correlación significativa entre edad gestacional y digitoxina libre en los individuos con iguales tasas de albuminemia.

Con el fin de comprobar aún más el planteamiento que estamos exponiendo, es decir que las variaciones en las cifras de albuminemia no son la única causa que explica las diferencias encontradas en la fracción libre de los fármacos en los 3 grupos de edad estudiados, seleccionamos de cada grupo de edad aquellos casos que presentaban una albuminemia dentro de un rango similar (Tablas XVI, XVII y XVIII).

Los resultados son concluyentes (Tabla XIX) :

a) No hay diferencias (P n. s.) entre los niveles de albúmina de los 3 grupos de edad (Fig.

20) , a pesar de lo cual

b) Las diferencias en la fracción libre de sulfisoxazol (Fig. 21) se mantienen ($23,99 \pm 1,97 \%$ en los prematuros ; $15,88 \pm 0,57 \%$ y $14,74 \pm 0,55 \%$ en a término y postmaduros respectivamente), existiendo significación ($P < 0,001$) entre los primeros y los otros dos.

c) Con la fracción libre de diacepán (Fig. 22) ocurre lo mismo, es decir persisten las diferencias, existiendo significación ($P < 0,05$) entre el grupo de prematuros y los otros dos grupos de edad.

d) En cambio, en lo que a la fracción libre de digitoxina se refiere (Fig. 23), las diferencias que antes existían entre los distintos grupos de edad se hacen menores, y ya no se alcanza la significación estadística (P n. s.) entre prematuros y los otros dos grupos.

Esto sigue confirmando el comportamiento más irregular de la digitoxina en relación a diacepán y sulfisoxazol.

e) En lo que se refiere a los índices mol de fármaco fijado / mol de albúmina , descienden en los prematuros y se incrementan en postmaduros y a término, como era de esperar conforme las concentracio-

nes de albúmina se van haciendo similares en los 3 grupos de edad.

Creemos por tanto, que todo lo anteriormente expuesto demuestra que el aumento en el grado de fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas, que se produce conforme es mayor la edad gestacional del feto, no se debe sólo al incremento paralelo de sus tasas de albúmina, sino a una mayor madurez de la proteína, que tiene como consecuencia el hecho de que a igual concentración de albúmina, la fracción libre de fármaco en un feto a término de 40 semanas sea menor que en un pretérmino de 35 semanas.

VII. CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos en este estudio, nos permite extraer las siguientes conclusiones :

1. Las tasas de albuminemia en el feto se elevan paulatinamente en las últimas semanas del periodo gestacional, mientras que, en cambio las de ácidos grasos libres permanecen invariables.

2. En las últimas semanas de la etapa gestacional ocurren cambios profundos en la fijación de fármacos a la molécula de albúmina, que afectan desigualmente a los distintos "loci" explorados.

3. El cambio más importante se detecta en el "locus I", advirtiéndose una potente correlación inversa entre fracción libre de sulfisoxazol y edad gestacional, sin que deba ser imputable sólo a la elevación progresiva de las tasas de albuminemia.

4. El "locus II" (explorado con diacepán) también experimenta variaciones en el grado de fijación a lo largo del periodo estudiado, en la misma línea que el sulfisoxazol, aunque con menor intensidad.

5. El grado de fijación de la digitoxina al "locus III" es mayor que en el adulto, y no existen diferencias significativas en las distintas edades gestacionales estudiadas, cuando las cifras de proteínas son semejantes.

VIII. TABLAS

TABLA I : GRUPO DE RECIEN NACIDOS NORMALES A TERMINO

CASOS	EDAD GEST.		PESO R. N.	PROT. TOT.	ALBUM.	A. G. L.
	Dias	Sem.				
1.	264	37+5	2.660	5,89	4,13	0,3
2.	266	38	2.750	5,77	4,24	0,8
3.	267	38+1	3.850	6,19	4,14	0,4
4.	268	38+2	3.800	5,83	4,22	0,2
5.	270	38+4	2.800	5,80	4,00	0,4
6.	270	38+4	2.810	5,43	3,65	0,6
7.	270	38+4	3.090	6,12	4,28	0,3
8.	273	39	2.800	7,74	5,10	0,3
9.	273	39	3.150	6,38	4,44	0,4
10.	273	39	3.550	6,14	3,76	0,4
11.	273	39	3.800	6,07	4,09	0,2
12.	273	39	4.050	6,08	4,16	0,4
13.	276	39+3	3.180	7,05	4,53	0,5
14.	277	39+4	3.000	5,07	3,60	0,3
15.	277	39+4	3.590	6,63	4,47	0,1
16.	278	39+5	3.760	6,75	4,67	0,3
17.	280	40	3.700	6,14	4,09	0,4
18.	281	40+1	3.350	6,41	4,48	0,2
19.	282	40+2	3.520	6,33	4,31	0,4
20.	283	40+3	4.000	7,51	4,91	0,4
21.	284	40+4	3.300	7,07	4,76	0,7
22.	285	40+5	2.900	6,51	4,40	0,5
23.	286	40+6	3.810	7,52	5,04	0,4
24.	287	41	2.860	7,60	4,87	0,7
25.	287	41	3.100	6,23	4,11	0,4
26.	287	41	3.770	6,05	4,17	0,1
27.	287	41	3.850	6,53	4,41	0,4
28.	287	41	3.300	6,37	4,45	0,3
29.	287	41	4.000	7,57	4,72	0,4
30.	289	41+2	3.140	6,43	3,99	0,3

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
Proteínas Totales (gr/100 cc) ..	6,44	0,12	0,66
Albúmina (gr/100 cc)	4,34	0,07	0,38
Acidos grasos libres (meq/l).....	0,38	0,03	0,16

TABLA II : GRUPO DE RECIEN NACIDOS PREMATUROS

<u>CASOS</u>	<u>EDAD GEST.</u>		<u>PESO R. N.</u>	<u>PROT. TOT.</u>	<u>ALBUM.</u>	<u>A. G. L.</u>
	<u>Días</u>	<u>Sem.</u>				
1.	212	30+2	1.580	5,41	3,75	1,1
2.	224	32	1.680	6,15	4,38	0,3
3.	238	34	2.050	5,05	3,71	0,6
4.	238	34	2.200	4,82	3,42	0,5
5.	245	35	2.650	5,17	3,49	0,3
6.	248	35+3	2.340	6,01	4,55	0,3
7.	251	35+6	1.750	5,19	4,47	0,3
8.	252	36	1.600	5,32	3,65	0,2
9.	252	36	2.240	5,40	3,91	0,2
10.	252	36	2.400	5,24	3,57	0,4
11.	252	36	2.600	4,50	3,20	0,5
12.	258	36+6	2.700	4,93	3,47	0,3

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
Proteínas Totales (gr/100 cc) ..	5,26	0,13	0,46
Albúmina (gr/100 cc)	3,79	0,13	0,44
Acidos grasos libres (meq/l) ...	0,42	0,07	0,25

TABLA III : GRUPO DE RECIEN NACIDOS POSTMADUROS

CASOS	EDAD GEST.		PESO R. N.	PROT. TOT.	ALBUM.	A. G. L.
	Días	Sem.				
1.	296	42+2	2.650	6,29	4,03	0,3
2.	296	42+2	3.260	6,80	4,26	0,7
3.	296	42+2	4.050	5,87	4,08	0,6
4.	297	42+3	3.750	6,10	4,19	0,4
5.	298	42+4	3.250	7,20	4,86	0,3
6.	298	42+4	3.600	7,27	4,92	0,6
7.	299	42+5	3.850	6,74	4,44	0,2
8.	299	42+5	4.900	6,37	4,52	0,3
9.	300	42+6	3.550	6,84	4,62	0,5
10.	301	43	3.460	7,12	5,05	0,4
11.	301	43	3.500	6,40	4,17	0,4
12.	301	43	3.540	7,56	4,25	0,4
13.	305	43+4	3.150	5,78	3,78	0,2
14.	306	43+5	3.700	6,22	4,27	0,8

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
Proteínas Totales (gr/100 cc) ..	6,61	0,15	0,55
Albúmina (gr/100 cc)	4,39	0,10	0,37
Acidos grasos libres (meq/l) ...	0,44	0,05	0,18

TABLA IV : CIFRAS MEDIAS DE PROTEINAS PLASMATICAS Y ACIDOS GRASOS LIBRES EN LOS 3 GRUPOS DE RECIEN NACIDOS

	<u>PREMATUROS</u>	<u>A TERMINO</u>	<u>POSTMADUROS</u>
PROT. TOT.	5,26 ± 0,13	6,44 ± 0,12	6,61 ± 0,15
ALBUMINA	3,79 ± 0,13	4,34 ± 0,07	4,39 ± 0,10
GLOBULINAS	1,47 ± 0,08	2,10 ± 0,06	2,22 ± 0,10
A / G	2,76 ± 0,32	2,10 ± 0,05	2,01 ± 0,08
AC. GR. LIB.	0,42 ± 0,07	0,38 ± 0,03	0,44 ± 0,05

Las cifras de proteínas totales, albúmina y globulinas están expresadas en g / 100 ml. Las de ácidos grasos libres en meq / l.

TABLA V : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE SULFISOXAZOL A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. A TERMINO

<u>CASOS</u>	<u>% S.L.</u>	<u>S.U. / A. x 10⁻²</u>
1.	13,33	60,19
2.	18,29	55,27
3.	19,57	55,72
4.	17,83	55,84
5.	17,83	58,91
6.	19,02	63,63
7.	12,05	58,93
8.	14,80	47,91
9.	12,41	56,58
10.	18,75	61,97
11.	15,72	59,10
12.	14,62	58,86
13.	12,87	55,16
14.	14,07	68,46
15.	18,10	52,51
16.	17,46	50,69
17.	15,44	59,29
18.	19,39	51,60
19.	13,15	57,77
20.	15,26	49,50
21.	17,92	49,45
22.	13,70	56,25
23.	11,22	50,52
24.	11,31	52,23
25.	19,48	56,19
26.	18,38	56,13
27.	14,06	55,89
28.	11,40	57,10
29.	11,40	53,83
30.	15,81	60,51

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
<u>% S.L.</u>	15,49	0,51	2,82
<u>S.U. / A.</u>	56,20 x 10 ⁻²	0,82 x 10 ⁻²	4,53 x 10 ⁻²

% S.L. = % de Sulfisoxazol libre

S.U. / A. = moles de Sulfisoxazol unidos por mol de albúmina

TABLA VI : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE SULFISOXAZOL A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. PREMATUROS

<u>CASOS</u>	<u>% S.L.</u>	<u>S.U. / A. x 10⁻²</u>		
1.	19,66	61,44		
2.	18,75	53,20		
3.	23,98	58,77		
4.	24,44	63,36		
5.	20,95	64,96		
6.	29,21	44,62		
7.	29,58	45,18		
8.	27,01	57,35		
9.	14,98	62,36		
10.	28,75	57,24		
11.	27,65	64,84		
12.	14,80	70,42		
	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>	
<u>% S.L.</u>	23,31	1,56	5,39	
<u>S.U. / A.</u>	58,65 x 10 ⁻²	2,25 x 10 ⁻²	7,81 x 10 ⁻²	

% S.L. = % de Sulfisoxazol libre

S.U. / A. = moles de Sulfisoxazol unidos por mol de albúmina

TABLA VII: RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE SULFISOXAZOL A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. POSTMADUROS

<u>C./SOS</u>	<u>% S.L.</u>	<u>S.U./ A. x 10⁻²</u>		
1.	16,64	59,32		
2.	17,46	55,57		
3.	15,81	59,18		
4.	13,15	59,45		
5.	11,77	52,07		
6.	12,69	50,89		
7.	12,87	56,28		
8.	11,96	55,86		
9.	11,96	54,65		
10.	11,77	50,11		
11.	14,71	58,66		
12.	15,99	56,69		
13.	14,71	64,71		
14.	14,16	57,65		
	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>	
% S.L.	13,97	0,52	1,94	
S.U./ A.	56,51 x 10 ⁻²	1,03 x 10 ⁻²	3,86 x 10 ⁻²	

% S.L. = % de Sulfisoxazol libre

S.U./ A. = moles de Sulfisoxazol unidos por mol de albúmina

TABLA VIII: RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE DIAZEPAM A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. A TERMINO

<u>CASOS</u>	<u>% Dz. L.</u>	<u>Dz. U. / A. x 10⁻³</u>
1.	2,79	14,87
2.	3,33	14,41
3.	2,62	14,86
4.	2,73	14,57
5.	2,86	15,35
6.	3,37	16,73
7.	2,46	14,40
8.	2,49	12,08
9.	2,70	13,85
10.	2,44	16,40
11.	2,68	15,04
12.	2,66	14,79
13.	2,51	13,60
14.	2,52	17,11
15.	1,97	13,86
16.	2,87	13,14
17.	2,63	15,04
18.	2,56	13,75
19.	2,48	14,30
20.	2,35	12,57
21.	2,39	12,96
22.	2,79	13,96
23.	2,28	12,25
24.	2,81	12,61
25.	2,06	15,06
26.	2,77	14,73
27.	2,12	14,03
28.	2,26	13,88
29.	2,42	13,06
30.	2,76	15,40

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
% Dz. L.	2,59	0,06	0,31
Dz. U. / A.	14,29 x 10 ⁻³	0,23 x 10 ⁻³	1,24 x 10 ⁻³

% Dz. L. = % de Diazepam libre

Dz. U. / A. = moles de Diazepam unidos por mol de albúmina

TABLA IX : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE DIAZEPAM A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. F. PREMATUROS

<u>CASOS</u>	<u>% Dz. L.</u>	<u>Dz. U. / A. x 10⁻³</u>		
1.	4,37	16,12		
2.	2,73	14,03		
3.	3,60	16,42		
4.	3,59	17,81		
5.	3,40	17,49		
6.	3,51	13,40		
7.	4,68	13,48		
8.	2,36	16,91		
9.	2,63	15,74		
10.	4,01	16,99		
11.	3,91	18,98		
12.	2,49	17,76		
	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>	
% Dz. L.	3,44	0,22	0,75	
Dz. U. / A.	16,26 x 10 ⁻³	0,52 x 10 ⁻³	1,80 x 10 ⁻³	

% Dz. L. = % de Diazepam libre

Dz. U. / A. = moles de Diazepam unidos por mol de albúmina

TABLA X : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE DIAZEPAM A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. POSTNADUROS

<u>CASOS</u>	<u>% Dz. L.</u>	<u>Dz. U. / A. x 10⁻³</u>		
1.	2,67	15,26		
2.	2,11	14,52		
3.	3,40	14,96		
4.	2,76	14,67		
5.	2,49	12,68		
6.	2,95	12,46		
7.	2,48	13,88		
8.	2,49	13,63		
9.	2,64	13,32		
10.	2,46	12,21		
11.	2,39	14,79		
12.	2,44	14,51		
13.	2,73	16,26		
14.	3,54	14,28		
	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>	
% Dz. L.	2,68	0,10	0,39	
Dz. U. / A.	14,10 x 10 ⁻³	0,31 x 10 ⁻³	1,15 x 10 ⁻³	

% Dz. L. = % de Diazepam libre

Dz. U. / A. = moles de Diazepam unidos por mol de albúmina

TABLA XI : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE DIGITOXINA A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. A TERMINO

<u>CASOS</u>	<u>% Dx. L.</u>	<u>Dx. U. / A. x 10⁻⁵</u>
1.	3,27	4,59
2.	2,63	4,54
3.	2,78	4,60
4.	2,73	4,52
5.	3,02	4,76
6.	3,80	5,17
7.	2,51	4,46
8.	2,18	3,76
9.	3,29	4,27
10.	3,13	5,05
11.	2,76	4,66
12.	3,18	4,56
13.	2,33	4,22
14.	2,34	5,32
15.	3,59	4,23
16.	2,97	4,07
17.	2,54	4,67
18.	2,25	4,27
19.	2,65	4,43
20.	2,19	3,90
21.	4,22	3,94
22.	2,31	4,35
23.	2,79	3,78
24.	2,65	3,92
25.	2,35	4,66
26.	2,27	4,59
27.	2,33	4,34
28.	2,30	4,30
29.	3,56	4,00
30.	2,69	4,78

	<u>ME DIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
% Dx. L.	2,79	0,09	0,52
Dx. U. / A.	4,42 x 10 ⁻⁵	0,07 x 10 ⁻⁵	0,39 x 10 ⁻⁵

% Dx. L. = % de Digitoxina libre

Dx. U. / A. = moles de Digitoxina unidos por mol de albúmina

TABLA XII : RESULTADO DE LA FIJACION IN VITRO DE DIGITOXINA A LA ALBUMINA EN EL GRUPO DE R. N. PREMATUROS

<u>CASOS</u>	<u>% Dx. L.</u>	<u>Dx. U. / A. x 10⁻⁵</u>		
1.	3,07	5,06		
2.	2,08	4,38		
3.	2,72	5,14		
4.	3,30	5,54		
5.	3,11	5,44		
6.	4,22	4,12		
7.	3,47	4,23		
8.	4,38	5,14		
9.	2,68	4,88		
10.	3,34	5,30		
11.	3,68	5,90		
12.	3,25	5,47		
	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>	
% Dx. L.	3,27	0,18	0,64	
Dx. U. / A.	5,05 x 10 ⁻⁵	0,16 x 10 ⁻⁵	0,55 x 10 ⁻⁵	

% Dx. L. = % de Digitoxina libre

Dx. U. / A. = moles de Digitoxina unidos por mol de albúmina

TABLA XIV : CIFRAS MEDIAS DE FARMACO LIBRE E INDICE FARMACO UNIDO / MOL DE ALBUMINA EN LOS 3 GRUPOS

	PREMATUROS	A TERMINO	POSTMADUROS
% S. L.	25,31 ± 1,56	15,49 ± 0,51	13,97 ± 0,52
S. U. / A.	586,5 ± 22,5	562,0 ± 8,28	565,1 ± 10,3
% Dz. L.	03,44 ± 0,22	02,59 ± 0,06	02,68 ± 0,10
Dz. U. / A.	16,26 ± 0,52	14,29 ± 0,23	14,10 ± 0,31
% Dx. L.	03,27 ± 0,18	02,79 ± 0,09	02,72 ± 0,11
Dx. U. / A.	50,50 ± 1,60	44,22 ± 0,71	43,71 ± 0,95

Las cifras de sulfisoxazol y diazepam unidos a la albúmina están expresadas en milimoles de fármaco por mol de proteína. Las de digitoxina lo están en micro-moles.

TABLA XV : % DE FARMACO LIBRE Y ALBUMINEMIA DE LOS RECIEN NACIDOS SEGUN SU EDAD GESTACIONAL EN SEMANAS

	<u>ALBUMINA</u>	<u>% S. L.</u>	<u>% Dz. L.</u>	<u>% Dx. L.</u>
<u><36 SEM.</u>	3,97 ± 0,18	23,79 ± 1,65	3,69 ± 0,24	3,14 ± 0,25
<u><38 SEM.</u>	3,66 ± 0,13	21,08 ± 3,02	3,03 ± 0,30	3,43 ± 0,23
<u><40 SEM.</u>	4,22 ± 0,10	16,22 ± 0,66	2,68 ± 0,09	2,88 ± 0,12
<u><42 SEM.</u>	4,48 ± 0,09	14,85 ± 0,81	2,48 ± 0,06	2,65 ± 0,15
<u>>42 SEM.</u>	4,39 ± 0,10	13,97 ± 0,52	2,68 ± 0,10	2,72 ± 0,11

TABLA XVI : GRUPO SELECCIONADO DE PREMATUROS CON CIFRAS DE ALBUMINA COMPRENDIDAS ENTRE 3,57 Y 4,55 g %

CASO	ALBUM.	% S.L.	S.U./ A.	% Dz.L.	Dz.U./ A.	% Dx.L.	Dx.U./ A.
1.	3,75	19,66	614,4	4,37	16,12	3,07	50,6
2.	4,38	18,75	532,0	2,73	14,03	2,08	43,8
3.	3,71	23,98	587,7	3,60	16,42	2,72	51,4
6.	4,55	29,21	446,2	3,51	13,40	4,22	41,2
7.	4,47	29,58	451,8	4,68	13,48	3,47	42,3
8.	3,65	27,01	573,5	2,36	16,91	4,38	51,4
9.	3,91	14,98	623,6	2,63	15,74	2,58	48,8
10.	3,57	28,75	572,4	4,01	16,99	3,34	53,0

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
ALBUMINA	4,00	0,14	0,40
% S. L.	23,99	1,97	5,57
S.U./ A.	550,2	24,19	68,43
% Dz. L.	3,48	0,30	0,85
Dz.u./ A.	15,38	0,53	1,51
% Dx. L.	3,24	0,27	0,78
Dx.U./ A.	47,81	1,64	4,65

Las cifras de sulfisoxazol y diazepam unidos a la albúmina están expresadas en milimoles de fármaco por mol de proteína. Las de la digtoxina lo están en micromoles.

TABLA XVII: GRUPO SELECCIONADO DE R. N. A TERMINO CON CIFRAS DE ALBUMINA COMPRENDIDAS ENTRE 3,60 Y 4,53 g %

CASO	ALBUM.	% S.L.	S.U./ A.	% Dz.L.	Dz.U./ A.	% Dx.L.	Dx.U./ A.
1.	4,13	13,33	601,9	2,79	14,87	3,27	45,9
2.	4,24	18,29	552,7	3,33	14,41	2,63	45,4
3.	4,14	19,57	557,2	2,62	14,86	2,78	46,0
4.	4,22	17,83	558,4	2,73	14,57	2,73	45,2
5.	4,00	17,83	589,1	2,86	15,35	3,02	47,6
6.	3,65	19,02	636,3	3,37	16,73	3,80	51,7
7.	4,28	12,05	589,3	2,46	14,40	2,51	44,6
9.	4,44	12,41	565,8	2,70	13,85	3,29	42,7
10.	3,76	18,75	619,7	2,44	16,40	3,13	50,5
11.	4,09	15,72	591,0	2,68	15,04	2,76	46,6
12.	4,16	14,62	588,6	2,66	14,79	3,18	45,6
13.	4,53	12,87	551,6	2,51	13,60	2,33	42,2
14.	3,60	14,07	684,6	2,52	17,11	2,34	53,2
15.	4,47	18,10	525,5	1,97	13,86	3,59	42,3
17.	4,09	15,44	592,9	2,63	15,04	2,54	46,7
18.	4,48	19,39	516,0	2,56	13,75	2,25	42,7
19.	4,31	13,15	577,7	2,48	14,30	2,65	44,3
22.	4,40	13,70	562,5	2,79	13,96	2,31	43,5
25.	4,11	19,48	561,9	2,06	15,06	2,35	46,6
26.	4,17	18,38	561,3	2,77	14,73	2,27	45,9
27.	4,41	14,06	558,9	2,12	14,03	2,33	43,4
28.	4,45	11,40	571,0	2,26	13,88	2,30	43,0
30.	3,99	15,81	605,1	2,76	15,40	2,69	47,8

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
ALBUMINA	4,18	0,05	0,25
% S. L.	15,88	0,57	2,73
S.U./ A.	579,1	7,52	36,07
% Dz. L.	2,61	0,07	0,33
Dz.U./ A.	14,78	0,19	0,94
% Dx. L.	2,74	0,09	0,45
Dx.U./ A.	45,80	0,61	2,93

Las cifras de sulfisoxazol y diazepam unidos a la albúmina están expresadas en milimoles de fármaco por mol de proteína. Las de la digoxina lo están en micromoles.

TABLA XVIII: GRUPO SELECCIONADO DE POSTMADUROS CON CIFRAS DE ALBUMINA COMPRENDIDAS ENTRE 3,78 Y 4,52 g %

CASO	ALBUM.	% S.L.	S.U./ A.	% Dz.L.	Dz.U./ A.	% Dx.L.	Dx.U./ A.
1.	4,03	16,64	593,2	2,67	15,26	2,92	47,3
2.	4,26	17,46	555,7	2,11	14,52	2,26	45,0
3.	4,08	15,81	591,8	3,40	14,96	2,73	46,7
4.	4,19	13,15	594,5	2,76	14,67	2,38	45,7
7.	4,44	12,87	562,8	2,48	13,88	2,73	42,9
8.	4,52	11,96	558,6	2,49	13,63	3,55	41,8
11.	4,17	14,71	586,6	2,39	14,79	2,67	45,7
12.	4,25	15,99	566,9	2,44	14,51	3,29	44,5
13.	3,78	14,71	647,1	2,73	16,26	2,51	50,5
14.	4,27	14,16	576,5	3,54	14,28	3,06	44,5

	<u>MEDIA</u>	<u>ERROR ST.</u>	<u>DESV. T.</u>
ALBUMINA	4,20	0,06	0,21
% S. L.	14,74	0,55	1,75
S.U./ A.	583,4	8,49	26,84
% Dz. L.	2,70	0,14	0,45
Dz.U./ A.	14,67	0,23	0,73
% Dx. L.	2,82	0,13	0,41
Dx.U./ A.	45,46	0,76	2,41

Las cifras de sulfisoxazol y diazepam unidos a la albúmina están expresadas en milimoles de fármaco por mol de proteína. Las de la digitoxina lo están en micromoles.

Tabla XIX: CIFRAS MEDIAS DE ALBUMINA, FARMACO LIBRE E INDICE FARMACO UNIDO/MOL DE ALBUMINA EN LOS 3 GRUPOS DE RECIEN NACIDOS CON UN RANGO DE ALBUMINA SIMILAR

	<u>PREMATUROS</u>	<u>A TERMINO</u>	<u>POSTMADUROS</u>
ALBUMINA	4,00 ± 0,14	4,18 ± 0,05	4,20 ± 0,06
% S. L.	23,99 ± 1,97	15,88 ± 0,57	14,74 ± 0,55
S. U. / A.	550,2 ± 24,1	579,1 ± 7,52	583,4 ± 8,49
% Dz. L.	3,48 ± 0,30	2,61 ± 0,07	2,70 ± 0,14
Dz. U. / A.	15,38 ± 0,53	14,78 ± 0,19	14,67 ± 0,23
% Dx. L.	3,24 ± 0,27	2,74 ± 0,09	2,82 ± 0,13
Dx. U. / A.	47,81 ± 1,64	45,80 ± 0,61	45,46 ± 0,76

Las cifras de sulfisoxazol y diazepam unidos a la albúmina están expresadas en milimoles de fármaco por mol de proteína. Las de digitoxina lo están en micro-moles.

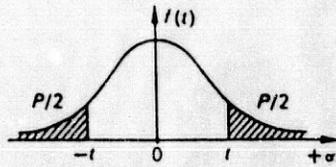
TABLA XX : FIJACION DE FARMACOS A LA ALBUMINA

[Tomada de Reidenberg y Erill (197)]

SITIOS DE FIJACION			
Diacepán	Digitoxina	Tamoxifén	Warfarina
Benzodiazepinas	Acetildigitoxina	Clomifeno	Azapropazona
Cloxacilina			Acidocilina
Dicloxacilina			Cloracepato
Dicumarol (2)			Clorotiacida
Acido Etacrínico			Dicumarol (1)
Flucloxacilina (2)			Diflunisal
Flurbiprofén (1)			Flucloxacilina (1)
Glibenclamida			Furosemida
Ibuprofén (1)			Glibenclamida
Indometacina			Indometacina
Ketoprofén			Ketoprofén (2)
Naproxen			Ac. Nalidíxico
Probenecid			Naproxén
Propiomacina			Oxifenbutazona
Tamoxifén (2)			Fenilbutazona
Tolazamida			Fenitoina
Tolbutamida			Salicilamida
Dansylsarcosina			Salicilazosulfapiridina
Triptófano			Ac. Salicilosalicílico
			Sulfadimetoxina
			Sulfametizol
			Tolbutamida
			Valproato sódico
			Bilirrubina
			Sulfobromophtaleina (2)

Algunos fármacos se fijan a más de un lugar de unión. Los números entre paréntesis indican si se trata del sitio primario o secundario.

TABLA XXI : DISTRIBUCION t DE STUDENT



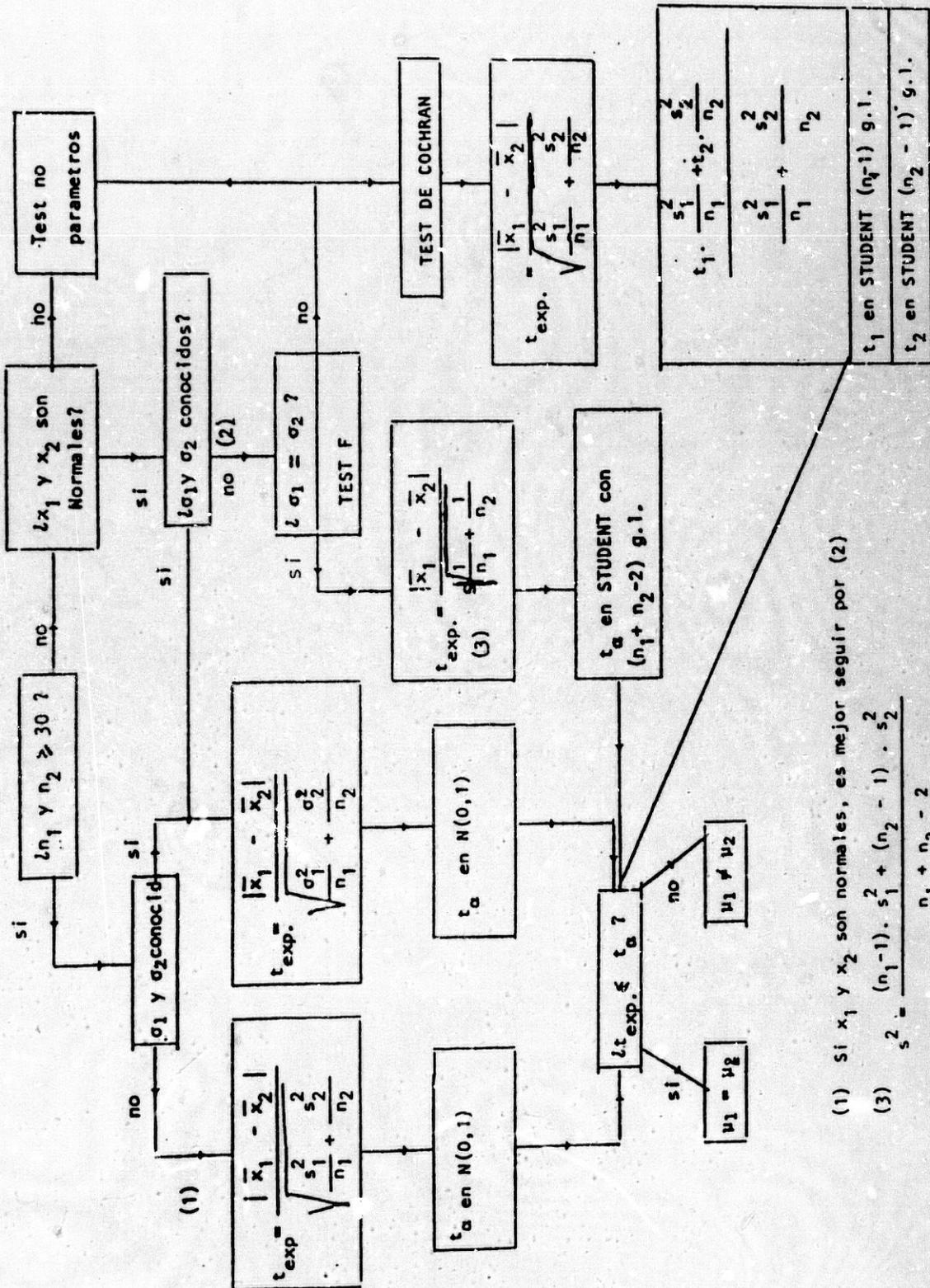
$\begin{matrix} P \\ \backslash \\ r \end{matrix}$	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,289	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,929
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
80	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

TABLA XXII : DISTRIBUCION F DE SNEDECOR

n_1/n_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161.4	189.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.60	8.04	8.02	8.00	8.00	8.00	8.00
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.98	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.50	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.16	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.10	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.39	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.66	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.29	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.54	2.47	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.44	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.08	2.02	1.97	1.92
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.03	1.98	1.93	1.88
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.45	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.65
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.44	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.70	1.64
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.26	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.60	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.08	2.01	1.94	1.89	1.82	1.74	1.65	1.60	1.55	1.50	1.43	1.35	1.26
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

$\alpha = 5\%$

TABLA XXIII : CUADRO DEL TEST PARA LA COMPARACION DE DOS MEDIAS DE MUESTRAS INDEPENDIENTES

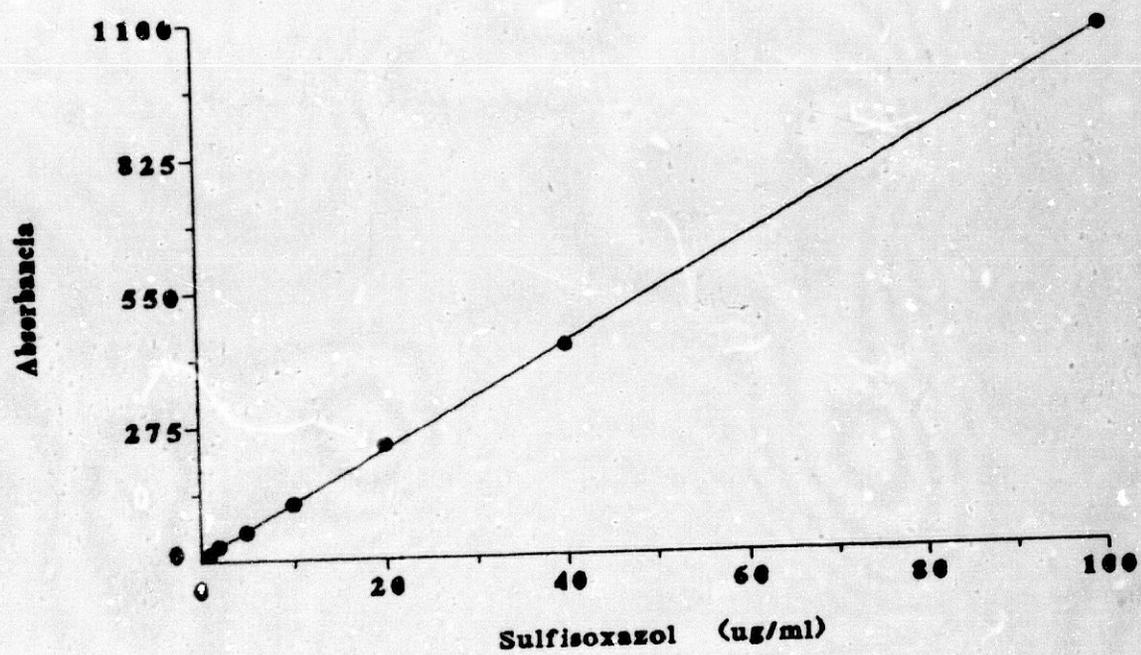


(1) Si x_1 y x_2 son normales, es mejor seguir por (2)
(3) $s^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$

**TABLA XXIV : VALORES DE SIGNIFICACION PARA
EL COEFICIENTE DE CORRELACION**

Grados de libertad	5%	1%	Grados de libertad	5%	1%
1	.997	1.000	24	.388	.496
2	.950	.990	25	.381	.487
3	.878	.959	26	.374	.478
4	.811	.917	27	.367	.470
5	.754	.874	28	.361	.463
6	.707	.834	29	.355	.456
7	.666	.798	30	.349	.449
8	.632	.765	35	.325	.418
9	.602	.735	40	.304	.393
10	.576	.708	45	.288	.372
11	.553	.684	50	.273	.354
12	.532	.661	60	.250	.325
13	.514	.641	70	.232	.302
14	.497	.623	80	.217	.283
15	.482	.606	90	.205	.267
16	.468	.590	100	.195	.254
17	.456	.575	125	.174	.228
18	.444	.561	150	.159	.208
19	.433	.549	200	.138	.181
20	.423	.537	300	.113	.148
21	.413	.526	400	.098	.128
22	.404	.515	500	.088	.115
23	.396	.505	1,000	.062	.081

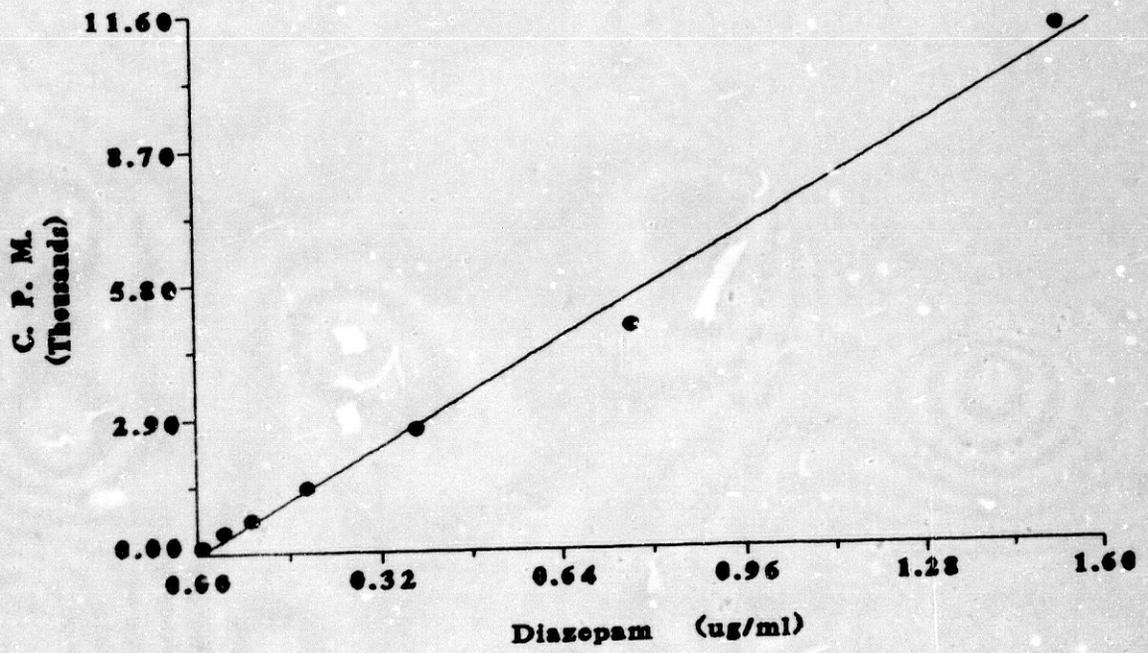
IX. FIGURAS

FIGURA 1 : CURVA STANDARD DE SULFISOXAZOL

$$Y = 7,056 + 10,874 X$$

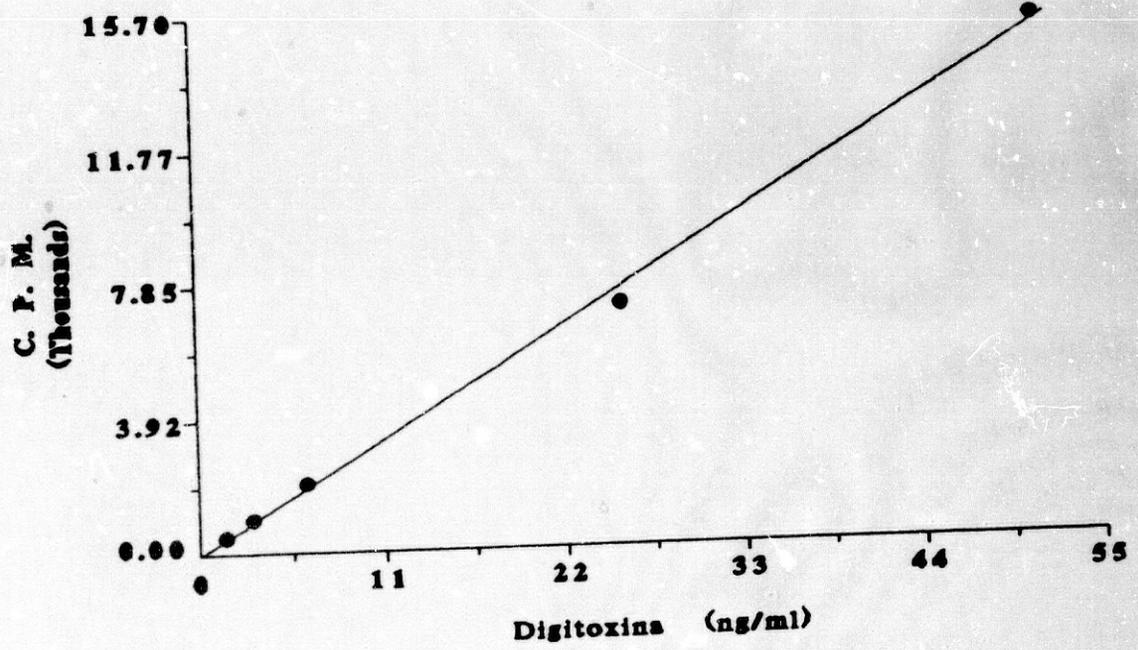
$$r = 0,999 ; P < 0,001$$

FIGURA 2 : CURVA STANDARD DE DIACEPAN



$$Y = - 59,325 + 7.339,548 X$$

$$r = 0,996 \quad ; \quad P < 0,001$$

FIGURA 3 : CURVA STANDARD DE DIGITOXINA

$$Y = - 53,261 + 304,248 X$$

$$r = 0,998 \quad ; \quad P < 0,001$$

FIGURA 4 : CIFRAS MEDIAS DE ALBUMINEMIA EN LOS 3 GRUPOS DE RECIEN NACIDOS

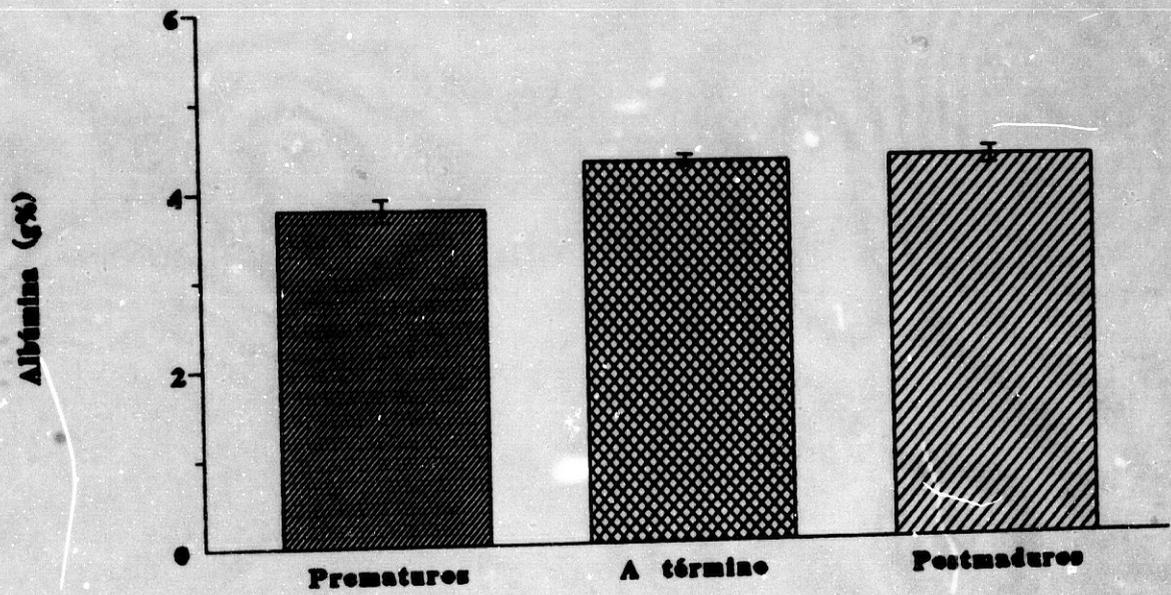


FIGURA 5 : CIFRAS MEDIAS DE ALBUMINA EN LOS R. N. SEGUN SU EDAD GESTACIONAL EN SEMANAS

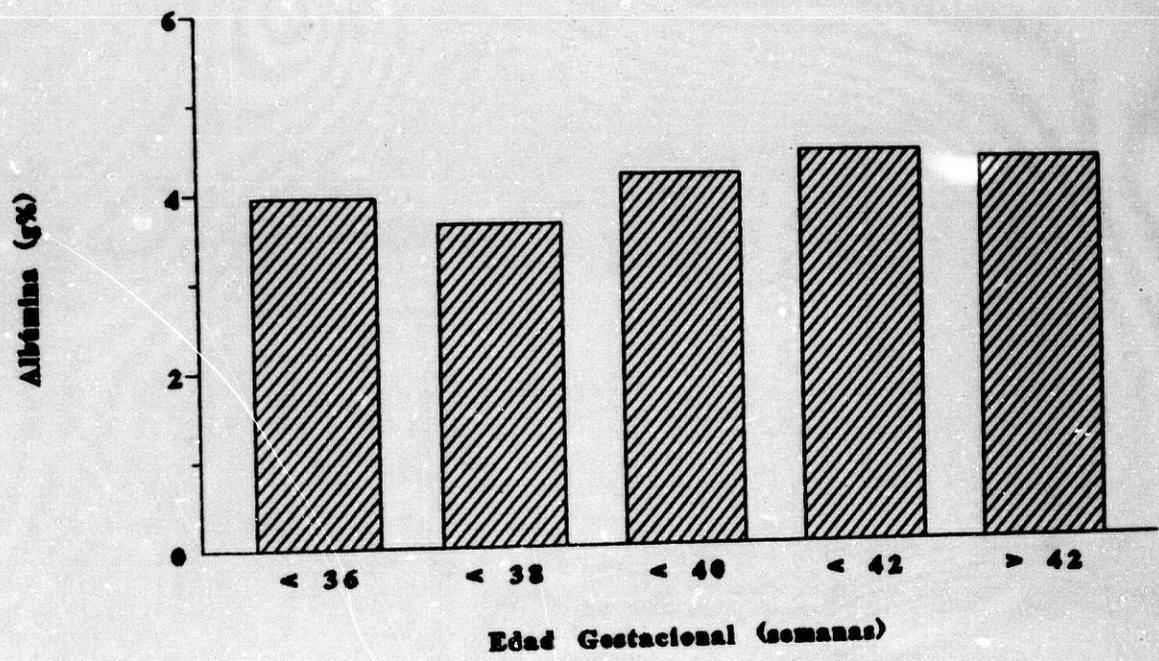
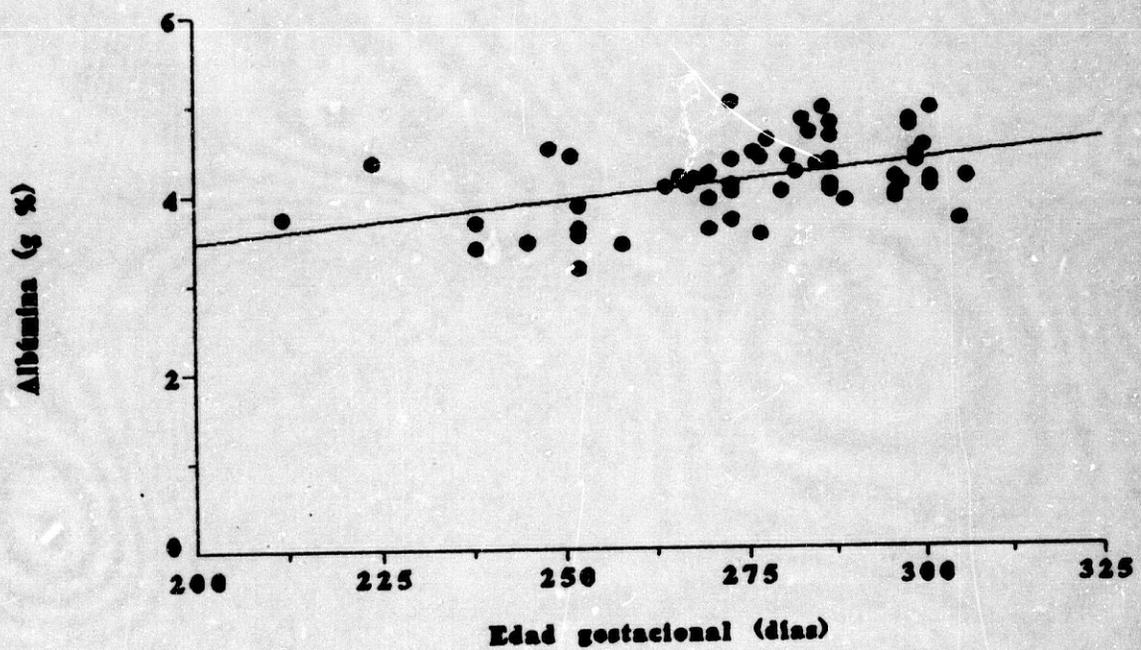


FIGURA 6 : CORRELACION ENTRE ALBUMINEMIA Y EDAD GESTACIONAL. RECTA DE REGRESION LINEAL



$$Y = 1,460 + 1,005 \cdot 10^{-2} X$$

$$r = 0,473 \quad ; \quad P < 0,001$$

FIGURA 7 : CIFRAS MEDIAS DE ACIDOS GRASOS LIBRES EN LOS 3 GRUPOS DE R. N.

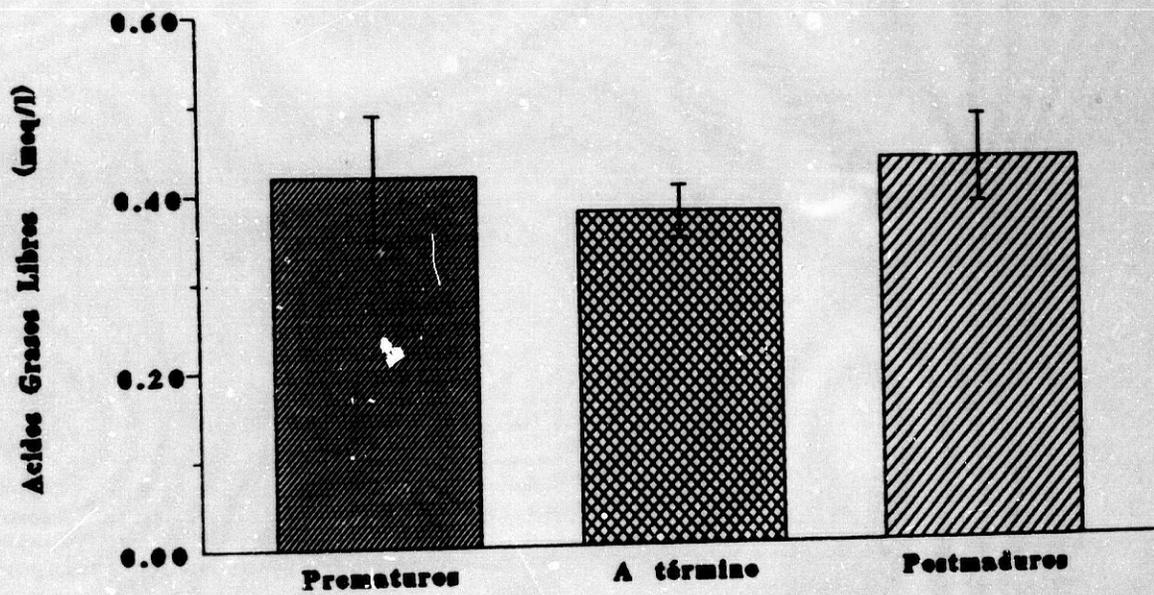
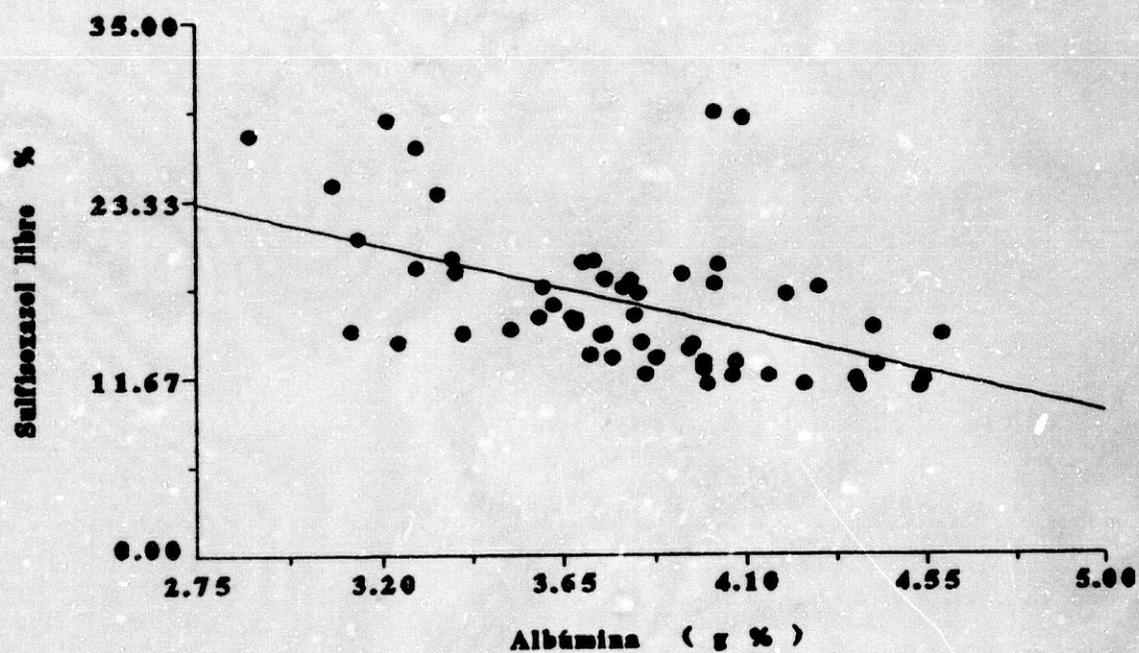


FIGURA 8 : CORRELACION ENTRE SULFISOXAZOL LIBRE Y ALBUMINEMIA. RECTA DE REGRESION LINEAL



$$Y = 39,719 - 6,015 X$$

$$r = -0,503 ; P < 0,001$$

FIGURA 9 : CIFRAS MEDIAS DE SULFISOXAZOL LIBRE EN LOS 3 GRUPOS DE R. N.

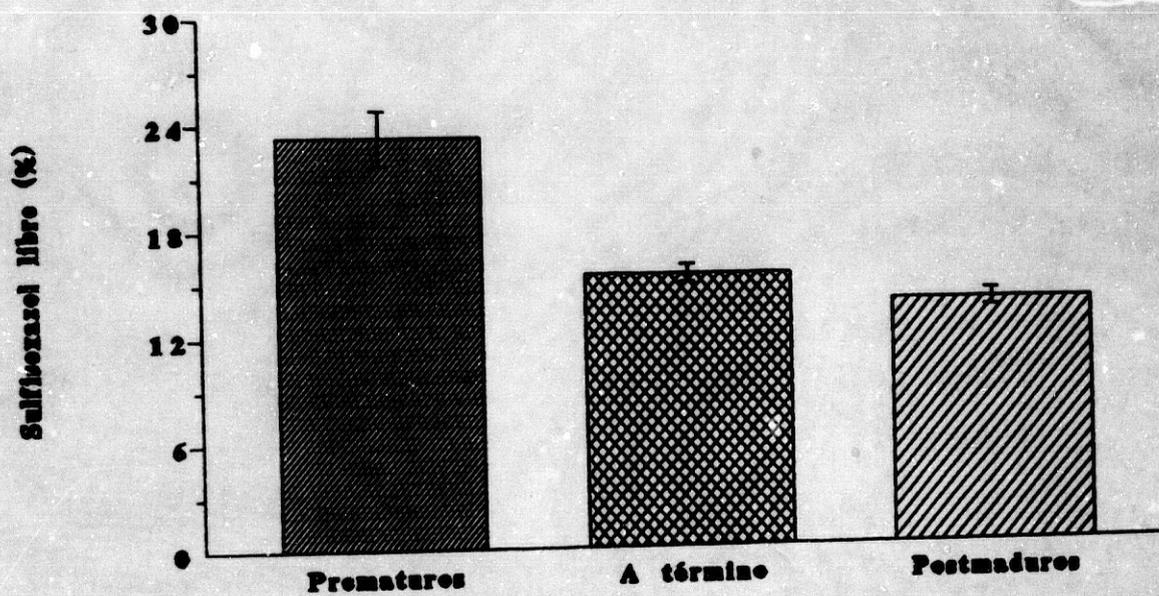


FIGURA 10 : CIFRAS MEDIAS DE SULFISOXAZOL LIBRE EN LOS R. N. SEGUN SU EDAD GESTACIONAL EN SEMANAS

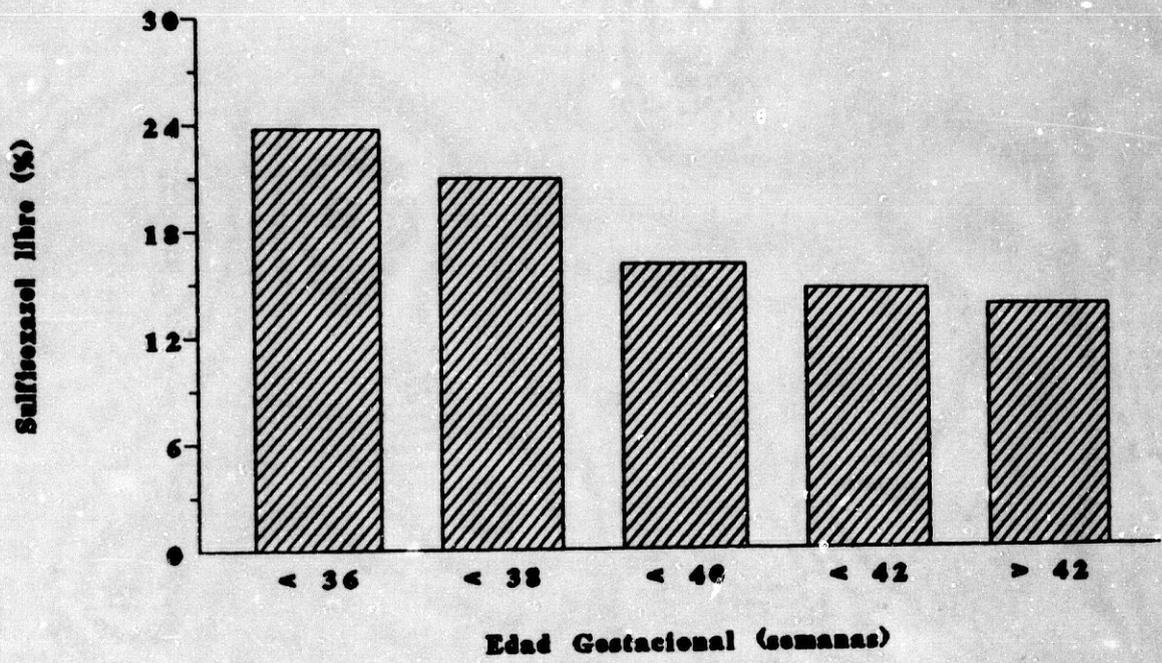
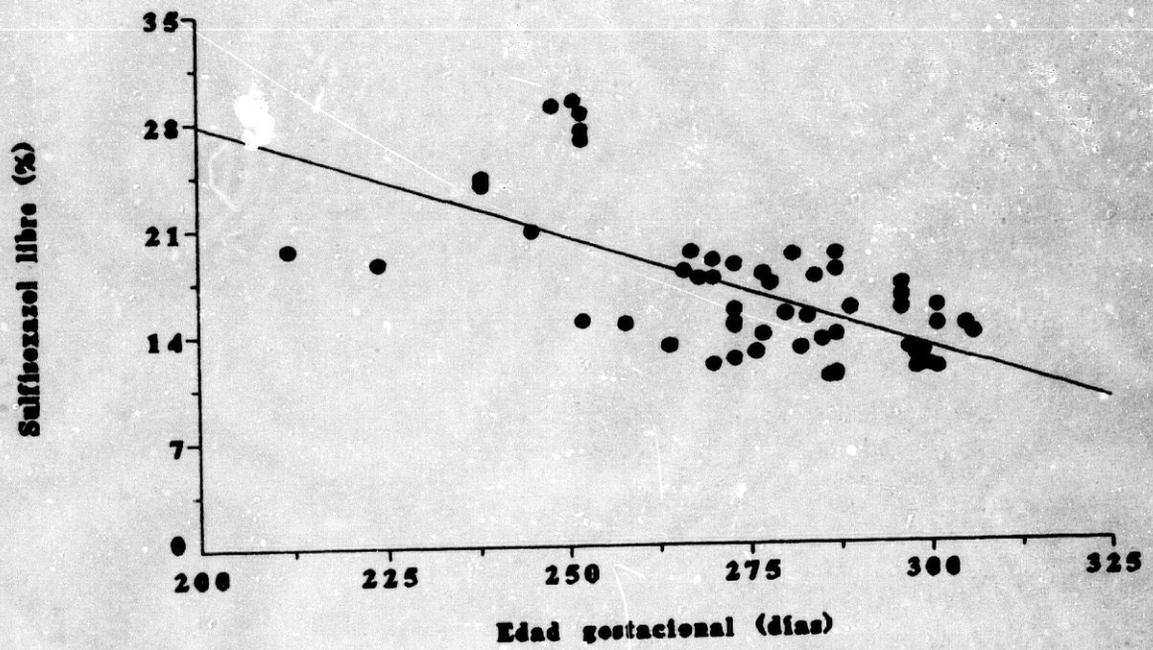


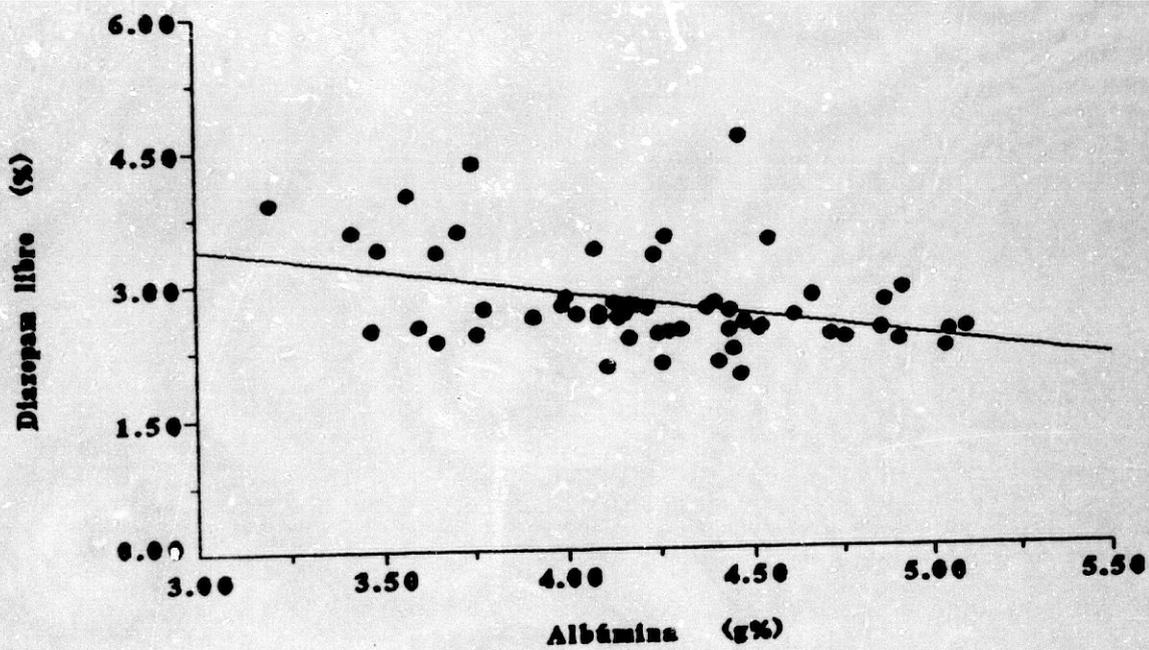
FIGURA 11 : CORRELACION ENTRE SULFISOXAZOL LIBRE Y
EDAD GESTACIONAL . RECTA DE REGRESION



$$Y = 56,995 - 14,569 \cdot 10^{-2} X$$

$$r = -0,637 \quad ; \quad P < 0,001$$

FIGURA 12 : CORRELACION ENTRE DIACEPAN LIBRE Y ALBUMINEMIA. RECTA DE REGRESION LINEAL



$$Y = 4,877 - 4,917 \cdot 10^{-1} X$$

$$r = - 0,390 \quad ; \quad P < 0,01$$

**FIGURA 13 : CIFRAS MEDIAS DE DIACEPAN LIBRE
EN LOS 3 GRUPOS DE RECIEN NACIDOS**

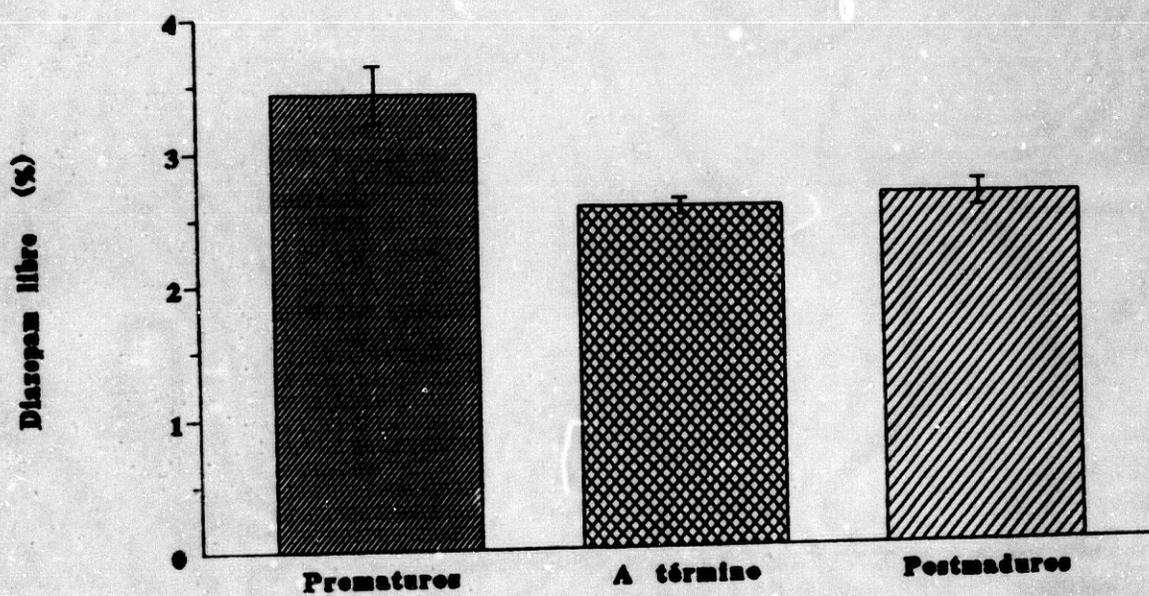


FIGURA 14 : CIFRAS MEDIAS DE DIACEPAN LIBRE EN LOS R. N. SEGUN SU EDAD GESTACIONAL EN SEMANAS

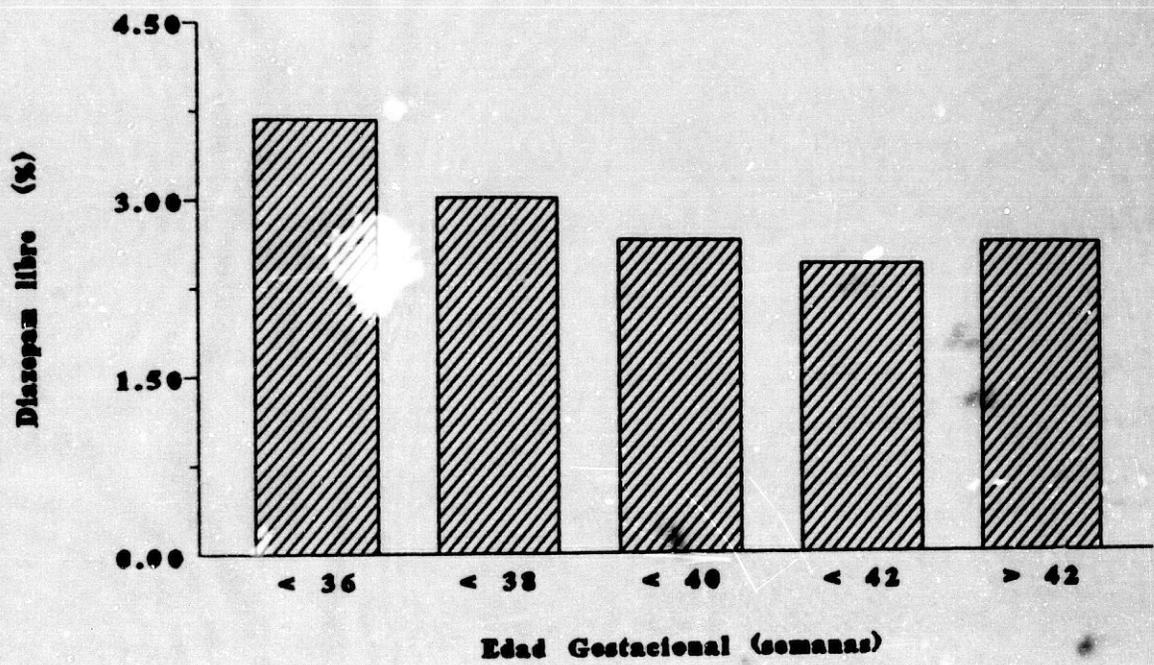
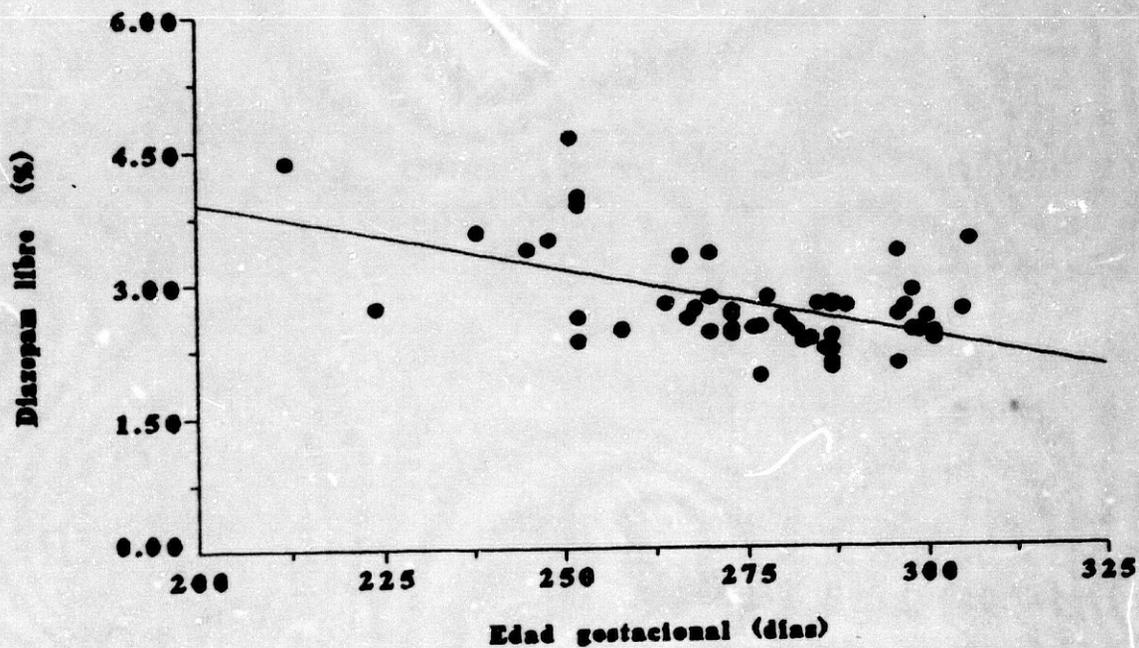


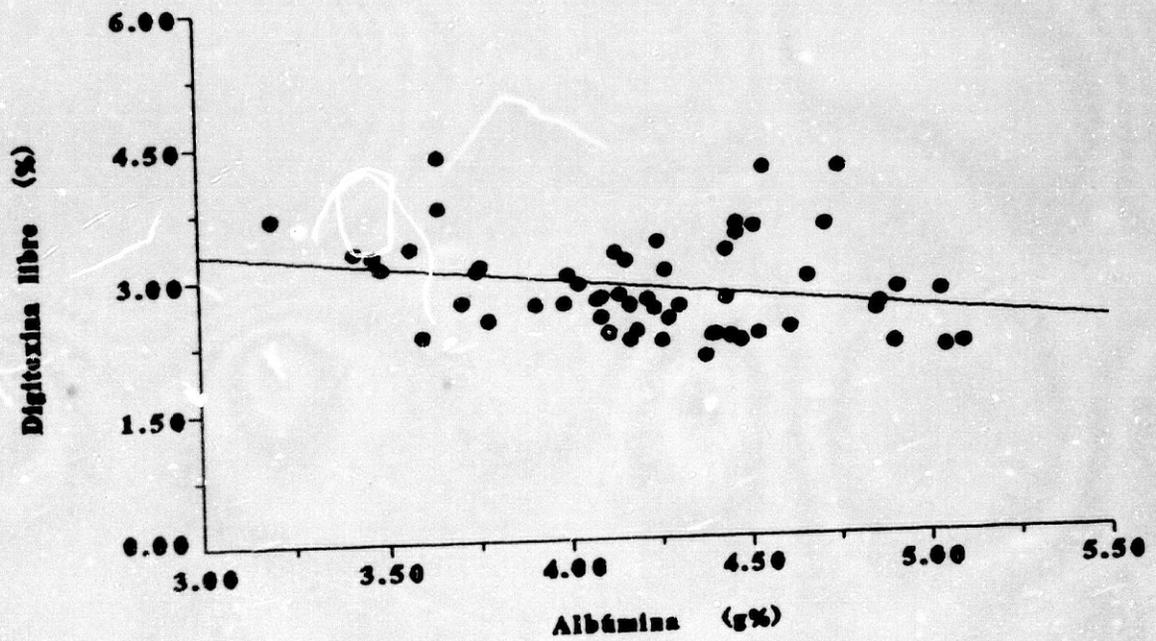
FIGURA 15 : CORRELACION ENTRE DIACEPAN LIBRE Y
EDAD GESTACIONAL. RECTA DE REGRESION



$$Y = 6,845 - 1,467 \cdot 10^{-2} X$$

$$r = -0,548 \quad ; \quad P < 0,001$$

FIGURA 16 : CORRELACION ENTRE DIGITOXINA LIBRE Y ALBUMINEMIA. RECTA DE REGRESION LINEAL



$$Y = 4,331 - 3,438 \cdot 10^{-1} X$$

$$r = -0,276 \quad ; \quad P < 0,05$$

FIGURA 17 : CIFRAS MEDIAS DE DIGITOXINA LIBRE EN LOS 3 GRUPOS DE RECIEN NACIDOS

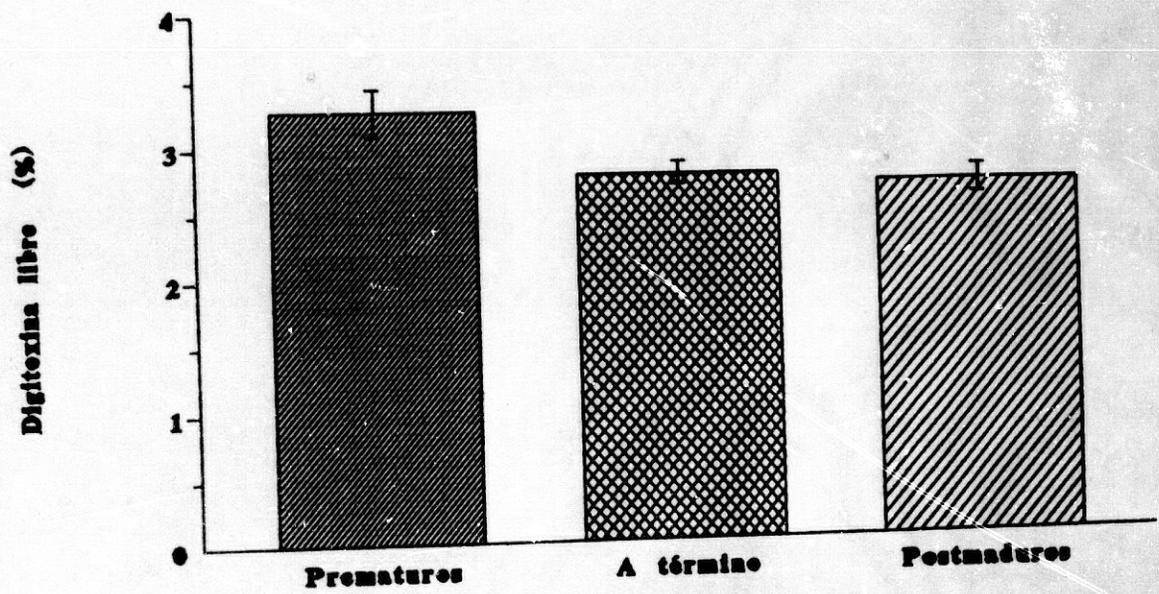
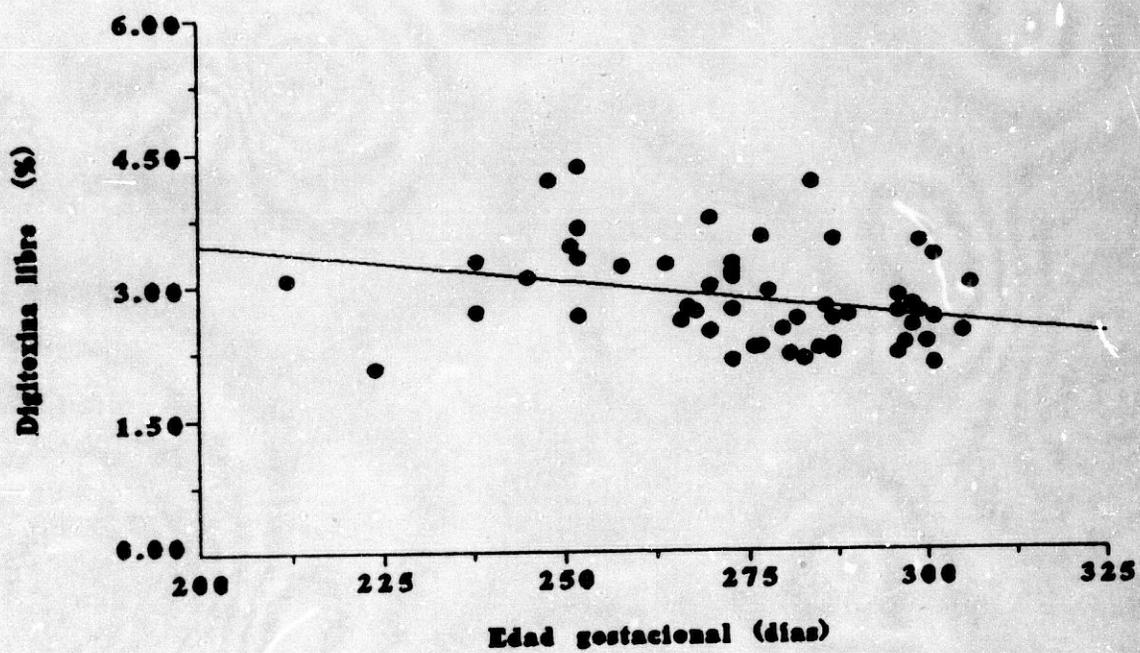


FIGURA 18 : CIFRAS MEDIAS DE DIGITOXINA LIBRE EN LOS R. N. SEGUN SU EDAD GESTACIONAL EN SEMANAS



FIGURA 19 : CORRELACION ENTRE DIGITOXINA LIBRE Y
EDAD GESTACIONAL. RECTA DE REGRESION



$$Y = 5,037 - 7,836 \cdot 10^{-3} X$$

$$r = -0,296 \quad ; \quad P < 0,05$$

FIGURA 20 : CIFRAS MEDIAS DE ALBUMINA EN LOS TRES GRUPOS DE RECIEN NACIDOS SELECCIONADOS CON UN RANGO DE ALBUMINEMIA SIMILAR

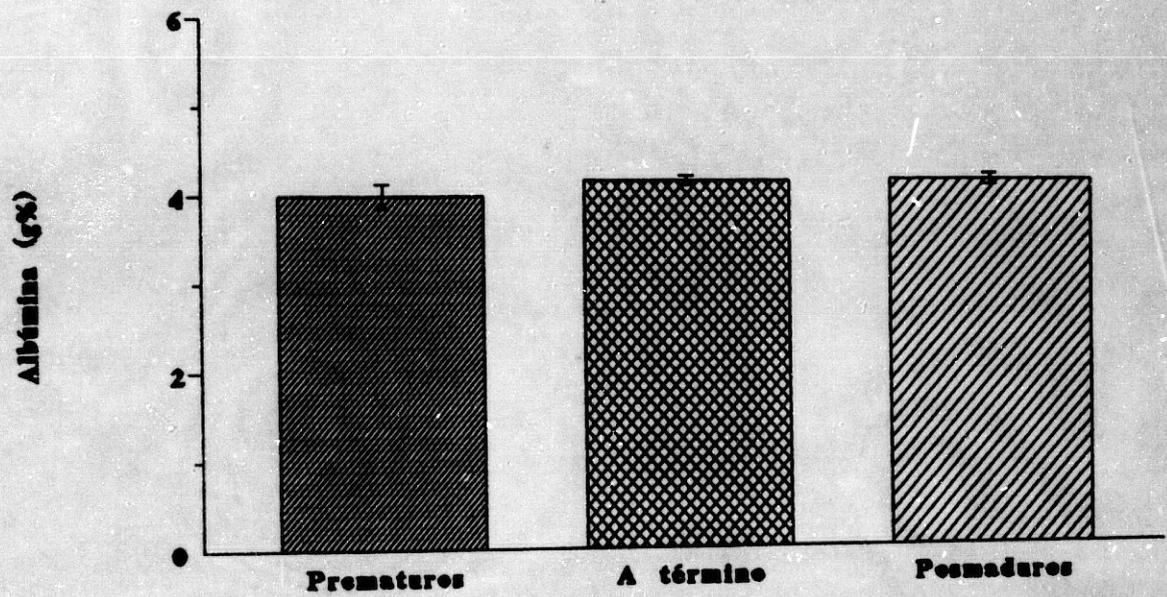


FIGURA 21 : CIFRAS MEDIAS DE SULFISOXAZOL LIBRE EN LOS TRES GRUPOS DE R. N. SELECCIONADOS CON UN RANGO DE ALBUMINEMIA SIMILAR

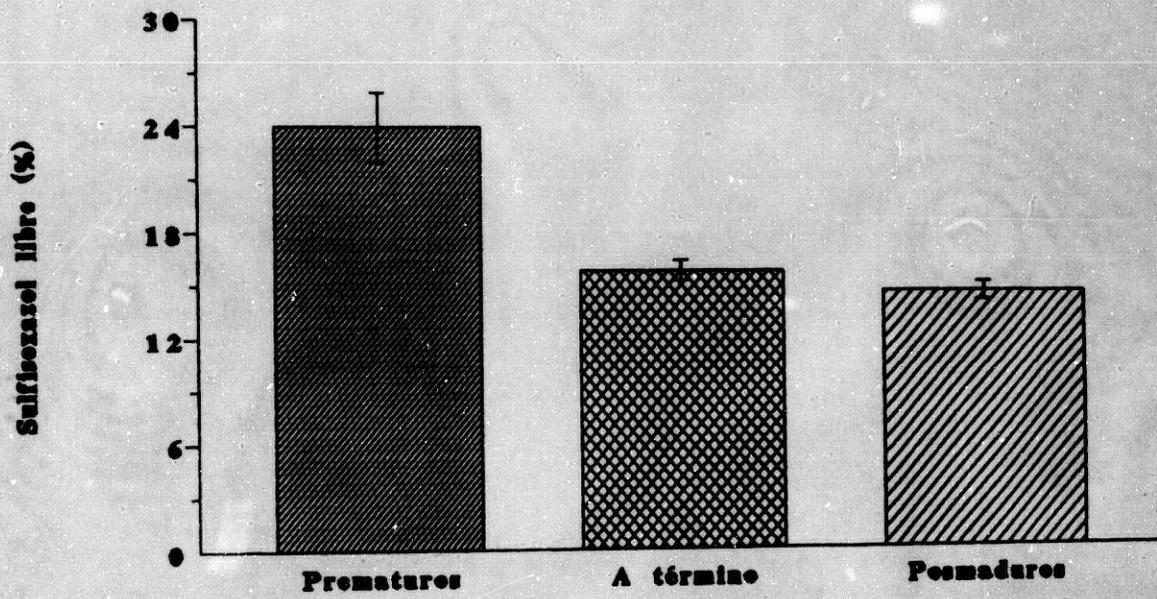


FIGURA 22 : CIFRAS MEDIAS DE DIACEPAN LIBRE EN LOS TRES GRUPOS DE R. N. SELECCIONADOS CON UN RANGO DE ALBUMINEMIA SIMILAR

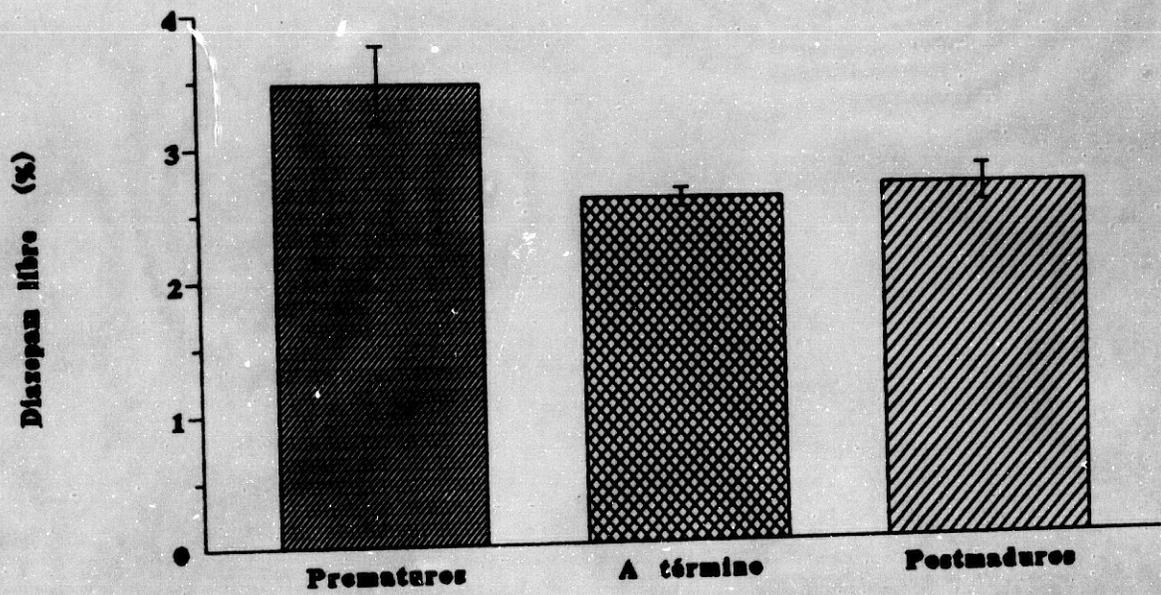


FIGURA 23 : CIFRAS MEDIAS DE DIGITOXINA LIBRE EN LOS TRES GRUPOS DE R. N. SELECCIONADOS CON UN RANGO DE ALBUMINEMIA SIMILAR

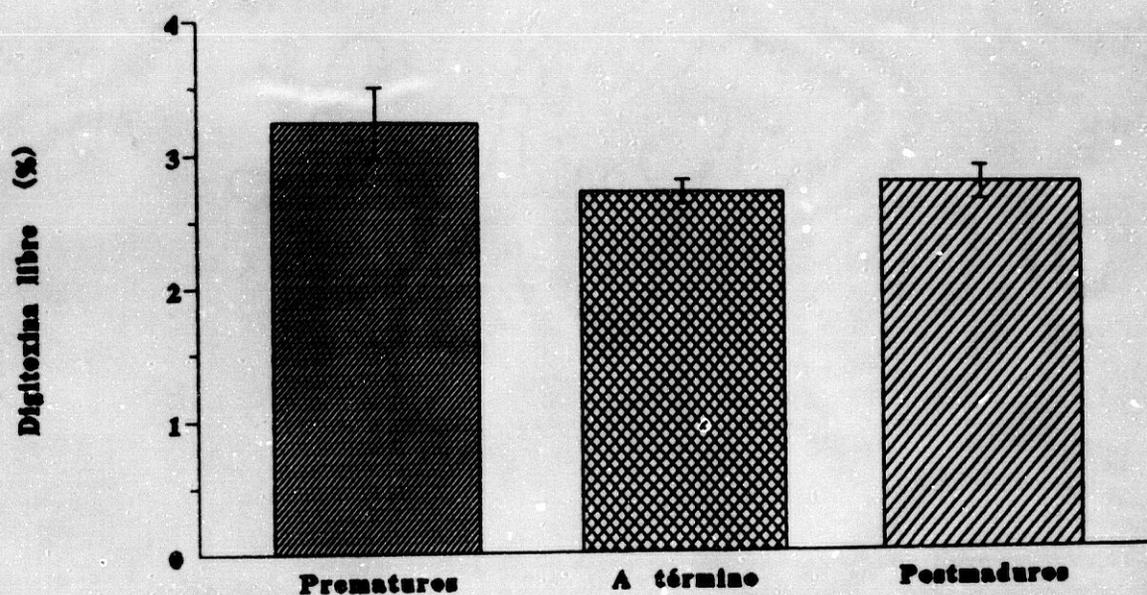
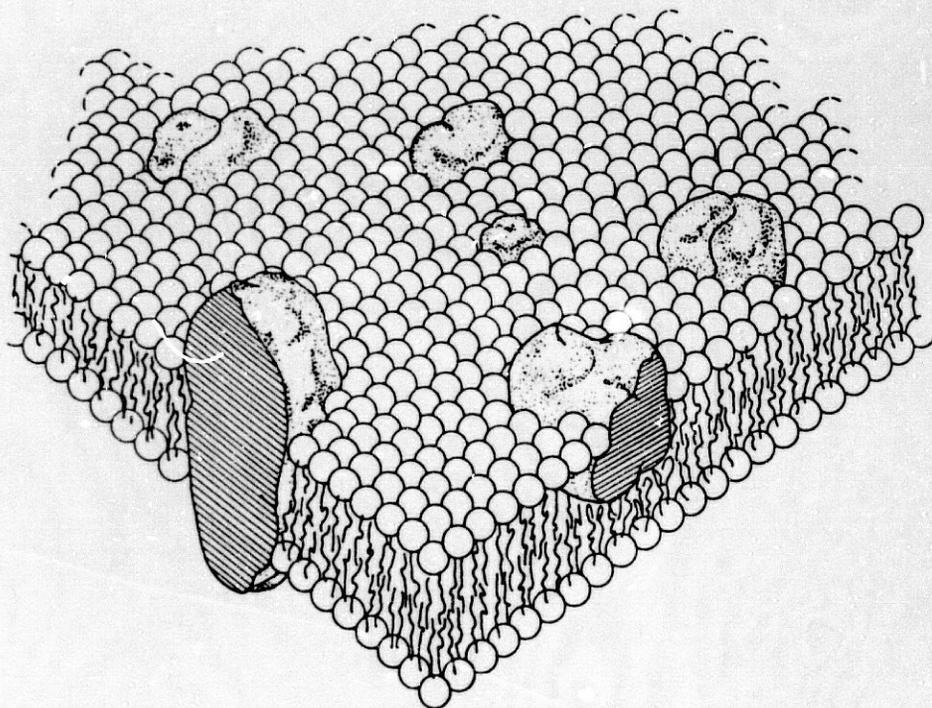
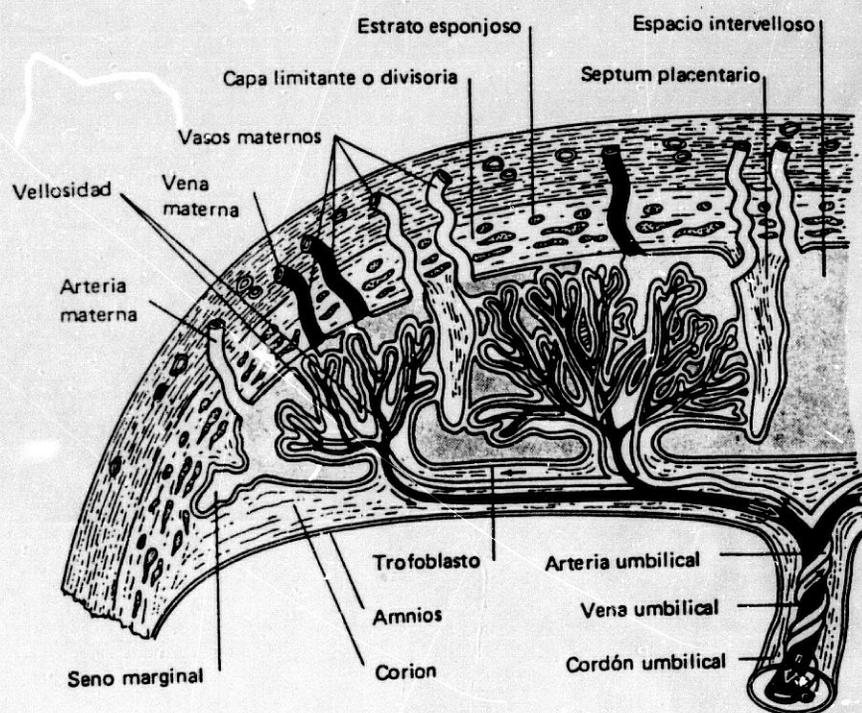


FIGURA 24 : ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA CELULAR.
MODELO EN MOSAICO FLUIDO (*)



(*) Tomado de Singer y Nicholson (74)

FIGURA 25 : ESTRUCTURA DE LA PLACENTA HUMANA (*)



(*) Tomado de Goldstein (76)

FIGURA 26 : LOCALIZACION ENZIMATICA Y METABOLICA EN EL HEPATOCITO. [Tomado de Lehninger (88)]

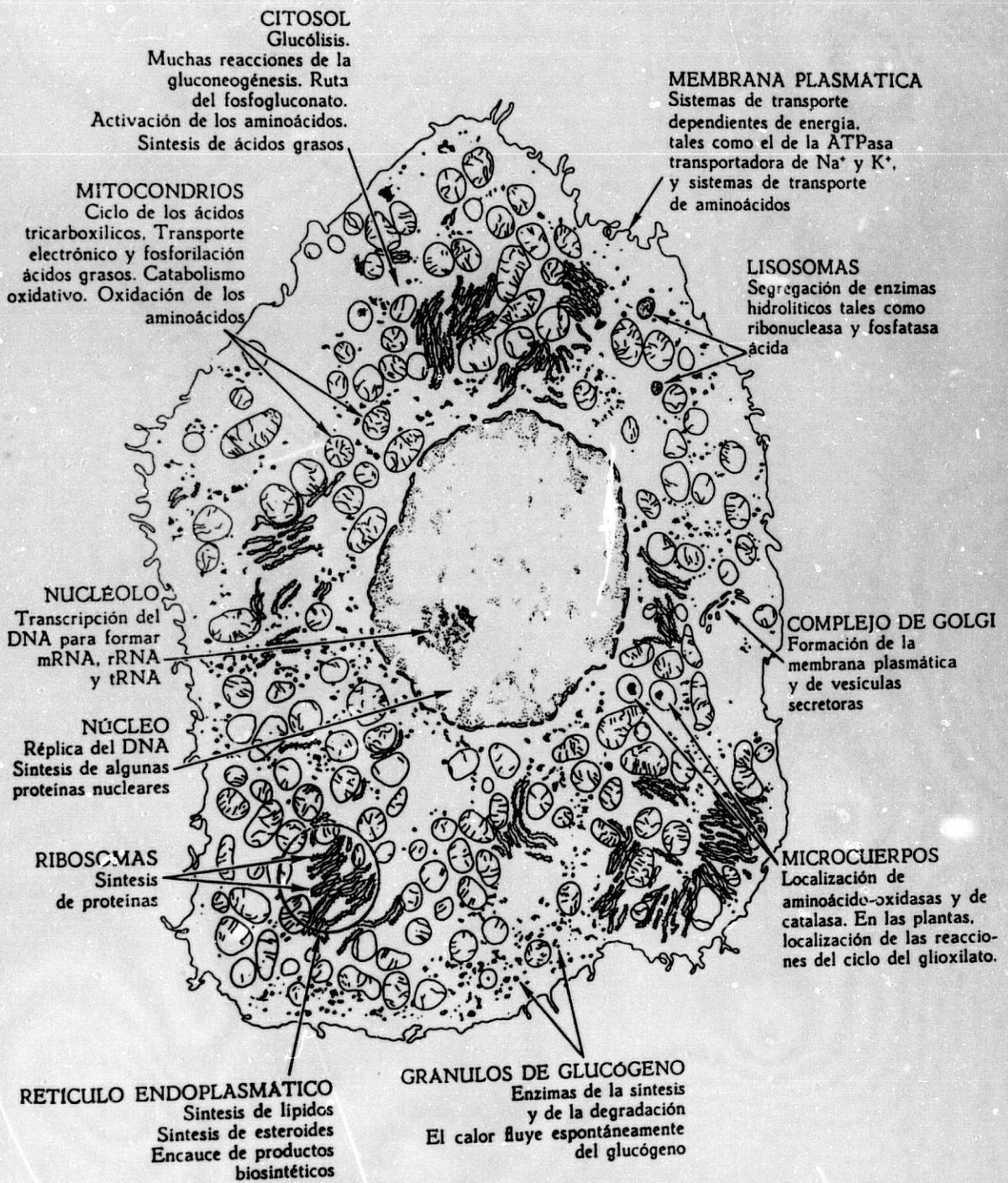
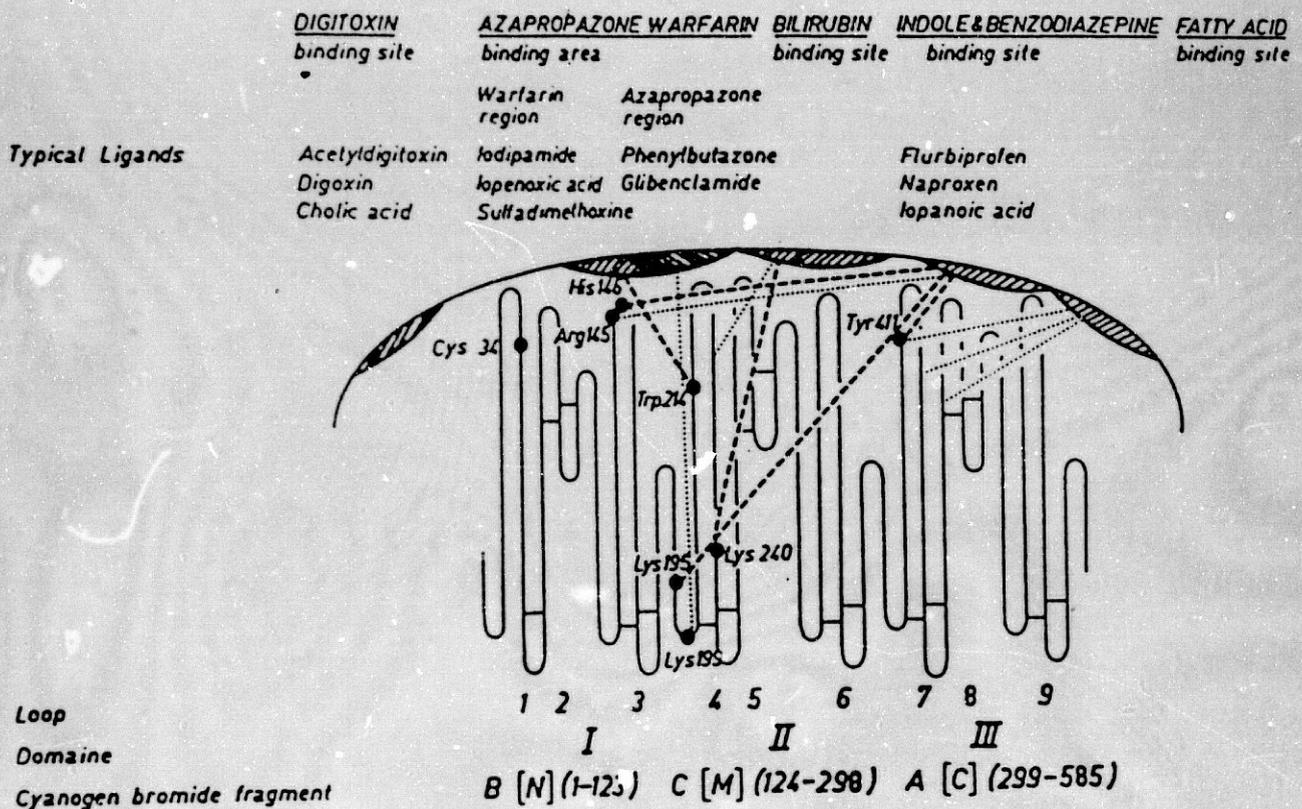
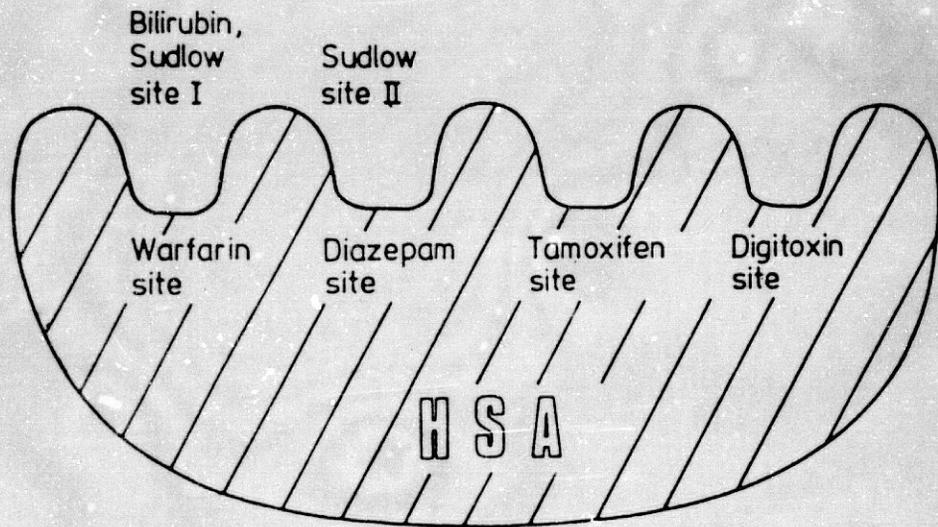


FIGURA 27 : POSIBLE LOCALIZACION DE LOS SITIOS DE FIJACION EN LA MOLECULA DE ALBUMINA ()**



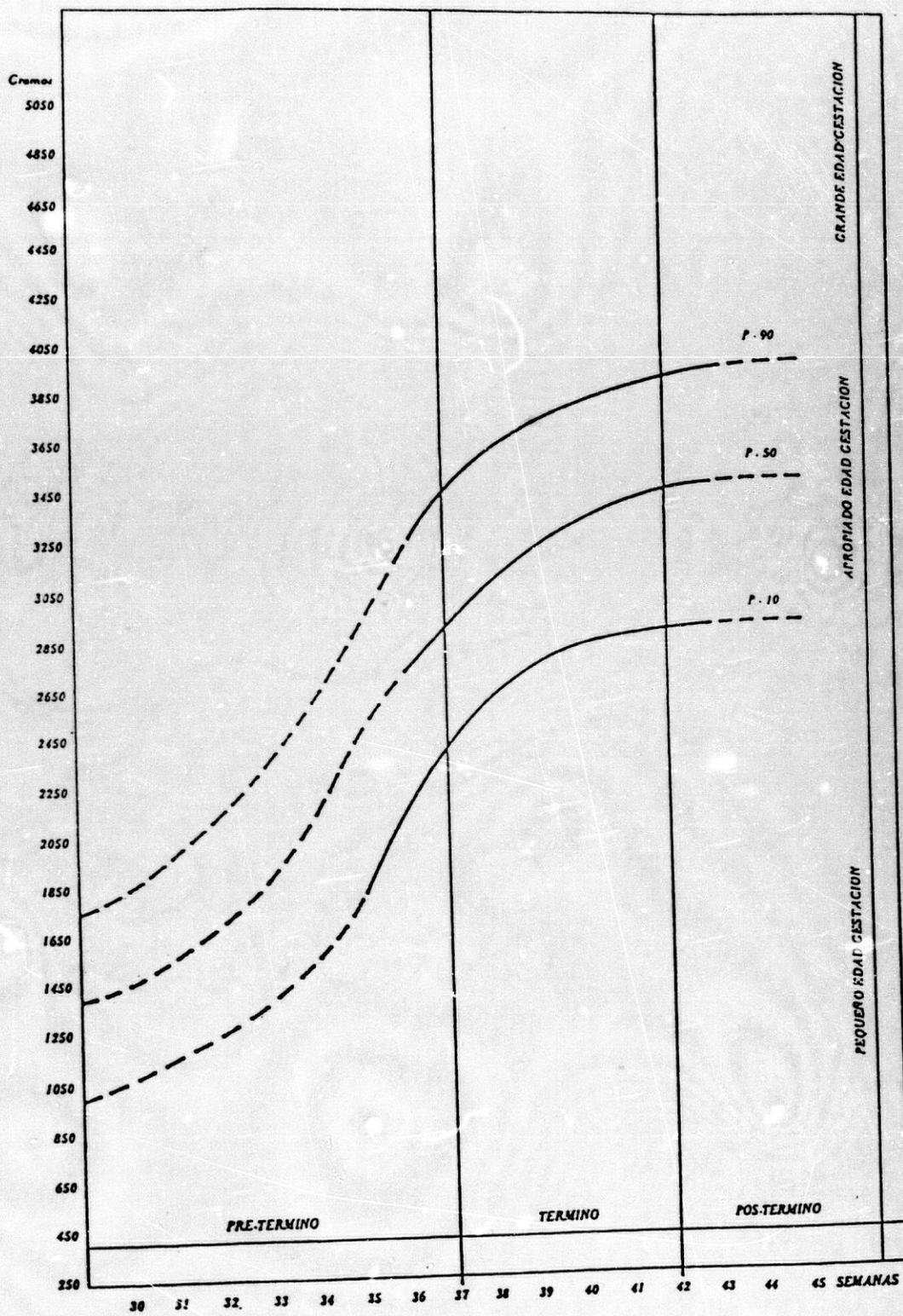
(*) Tomado de Feshke y cols. (en 197)

FIGURA 28 : ZONAS PRINCIPALES DE FIJACION DE FARMACOS EN LA MOLECULA DE ALBUMINA (*)



(*) Tomado de Reidenberg y Erill (197)

FIGURA 29 : GRAFICA DE ADECUACION ENTRE PESO Y EDAD GESTACIONAL EN EL NEONATO (*)



(*) Tomado de Cruz (192)

X. BIBLIOGRAFIA

1. GIBALDI, M.; McNAMARA, P.J. : "Apparent volumes of distribution and drug binding to plasma proteins and tissues". Eur. J. Clin. Pharmacol. 13 : 373-378 (1978).
2. GIBALDI, M.; LEVY, G.; McNAMARA, P.J. : "Effect of plasma protein and tissue binding on the biological half-life of drugs". Clin. Pharmacol. Ther. 24 : 1-4 (1978).
3. GIBALDI, M. : "Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics" . Lea & Febiger, 3th edition, Philadelphia, USA (1984).
4. HONIN, G.; BARRE, J.; TILLEMENT, J.P. : "Expected effect of blood or tissue protein binding variations of a drug on its relevant body distribution". Therapie 39 : 247-251 (1984).
5. JUSKO, W.J.; GRETH, M. : "Plasma and tissue protein binding of drugs in pharmacokinetics". Drug Metabol. Rev. 5 : 43-140 (1976).
6. TILLEMENT, J.P. : "The relationship between plasma protein binding distribution and pharmacokinetics of drugs". En : "Advances in Pharmacology and Therapeutics", editado por J.P. Tillement, pp. 103-111, Oxford : Pergamon (1979).

7. WILKINSON, G.R. : "Plasma and tissue binding considerations in drug disposition" . Drug Metab. Rev. 14 : 427-465 (1983).
8. LEVY, G. : "Effect of plasma protein binding of drugs on duration and intensity of pharmacological activity". J. Pharm. Sci. 65 : 1264-65 (1976).
9. LEVY, R.; SHAND, D.; eds. : "Clinical implications of drug protein binding". Clin. Pharmacokinet. 9 (Suppl. 1) : 1-104 (1984).
10. PEREZ MATEO, M.; ERILL, S. : "Interés clínico del fenómeno de la fijación de fármacos a las proteínas plasmáticas". Med. Clin. 69 : 483-89 (1977).
11. GOLDSTEIN, A. : "The interactions of drugs and plasma proteins" . Pharmacol. Rev. 1 : 102-165 (1949).
12. BAKER, R. : "Serum albumin in uremia : a clinical investigation correlated with reversible uremia in dogs". J. Urol. 65 : 197-209 (1951).
13. EHRSTROM, M.C.H. : "Das adsorptionvermogen der plasmaproteine : weitere untersuchungen". Acta Med. Scand. 91 : 191-196 (1937).
14. REIDENBERG, M.M. : "The binding of drugs to

- plasma proteins from patients with poor renal function". Clin. Pharmacokinet. 1 : 121-125 (1976).
15. ODAR-CEDERLOF, I. ; LUNDE, P. ; SJOQVIST, F. : "Abnormal pharmacokinetics of phenytoin in a patient with uremia". Lancet 1 : 831-832 (1970).
16. REIDENBERG, M.M. ; ODAR-CEDERLOF, I. ; VON BAHR, C. ; BORGA, O. ; SJOQVIST, F. : "Protein binding of diphenylhydantoin and desmethylinipramine in plasma from patients with poor renal function". N. Engl. J. Med. 285 : 264-267 (1971).
17. MEYER, M.C. ; GUTMAN, D.E. : "The binding of drugs by plasma proteins". J. Pharm. Sci. 57 : 895-918 (1968).
18. MULLER, W.E. ; WOLLERT, U. : "Human serum albumin as a silent receptor for drugs and endogenous substances". Pharmacology 19 : 59-67 (1979).
19. BORGA, O. ; PIAFSKY, K.M. ; NIELSEN, O.G. : "Plasma protein binding of basic drugs I. Selective displacement from alpha-1-acid-glycoprotein by Tris (2-butoxyethyl) phosphate". Clin. Pharmacol. Ther. 22 : 539-544 (1977).
20. PIAFSKY, K.M. ; BORGA, O. : "Plasma protein binding of basic drugs II. Importance of alpha-1-acid-

glycoprotein for interindividual variation". Clin. Pharmacol. Ther. 22 : 545-549 (1977).

21. VALLNER, J.J.; CHEN, L. : "Beta-lipoproteins : possible plasma transport proteins for basic drugs". J. Pharm. Sci. 66 : 420-421 (1977).

22. GILLIS, A.M.; YEE, Y.G.; KATES, R.E. : "Binding of antiarrhythmic drugs to purified human alpha-1-acid-glycoprotein". Biochem. Pharmac. 34 : 4279-4282 (1985).

23. ROUTLEDGE, P.A. ; BARCOWSKY, A. ; BJORNSSON, T. D.; KITCHELL, B.B.; SHAND, D.G. : "Lidocaine plasma protein binding" . Clin. Pharmacol. Ther. 27 : 347-351 (1980 a).

24. BROCK, A. : "Binding of digitoxin and digoxin to normal human Beta-lipoproteins". Acta pharmacol. et toxicol. 38 : 267-272 (1976).

25. CHEN, Z.; DANON, A. : "Binding of reserpine to plasma albumin and lipoproteins". Biochem. Pharmac. 28 : 267-271 (1979).

26. SAGER, G.; BRATLID, H.; LITTLE, C. : "Binding of catecholamines to alpha-1-acid-glycoprotein, albumin and lipoproteins in human serum". Biochem. Pharmac. 36 : 3607-3612 (1987).

27. LEMAIRE, M.; TILLEMENT, J.P. : "Role of lipoproteins and erythrocytes in the in vitro binding and distribution of cyclosporin A in the blood". J. Pharm. Pharmac. 34 : 715-718 (1982).
28. BICKEL, M.H. : "Binding of chlorpromazine and imipramine to red cells, albumin, lipoproteins and other blood components" . J. Pharm. Pharmac. 27 : 733-38 (1975).
29. TILLEMENT, J.P.; ZINI, R.; D'ATHIS, P; BOISSIER, J.R. : "Fixation de la chlorpromazine, de l'imipramine et de la nortriptyline sur les proteines plasmatiques" . Journal de Pharmacologie Clinique I : 227-233 (1974).
30. KRISTENSEN, C. : "Imipramine serum binding in healthy subjects". Clin. Pharmacol. Ther. 34 : 689-694 (1983).
31. VERBEECK, R.K. ; CARDINAL, J.A. ; HILL, A.G. ; MIDHA, K.K. : "Binding of phenothiazine neuroleptics to plasma proteins". Biochem. Pharmac. 32 : 2565-70 (1983).
32. BORGA, O. ; AZARNOFF, D.L. ; PLYM-FORSHELL, G. ; SJOQVIST, F. : "Plasma protein binding of tricyclic antidepressants in man". Biochem. Pharmac. 18 : 2135

-2143 (1969).

33. PIKE, E.; SKUTERUD, B. : "Plasma binding of amitriptyline and nortriptyline" . Clin. Pharmacol. Ther. 32 : 228-234 (1982 a).

34. PIAFSKY, K.M.; KNOPPERT, D. : "Binding of local anesthetics to alpha-1-acid-glycoprotein" . Clin. Res. 26, 836 A (1978).

35. NILSEN, O.G. ; JACOBSEN, S. : "The binding of quinidine to protein fractions of normal sera". Biochem. Pharmac. 25 : 995-998 (1975).

36. NILSEN, O.G. : "Serum albumin and lipoproteins as the quinidine binding molecules in normal human sera" . Biochem. Pharmac. 25 : 1007-1012 (1976).

37. NILSEN, O.G. ; LEREN, P.; AAKESON, I.; JACOBSEN, S. : "Binding of quinidine in sera with different levels of triglycerides, cholesterol and orosomucoid protein" . Biochem. Pharmac. 25 : 871-876 (1978).

38. FREMSTAD, D. ; BERGERUD, K. ; HOFFNER, J.F.W. ; LUNDE, P.K.M. : "Increased plasma binding of quinidine after surgery : a preliminary report" . Eur. J. Clin. Pharmacol. 10 : 441-444 (1976).

39. ABEL, J.G. ; SELLERS, E.M.; NARANJO, C.A.; SHAM,

- J. ; KADAR, D. ; ROMACH, M.K. : "Inter and intrasubject variation in diazepam free fraction". Clin. Pharmacol. Ther. 26 : 247-255 (1979).
40. ALEXANDERSON, B. ; BORGA, O. : "Interindividual differences in plasma protein binding of nortriptyline in man - a Twin study". Eur. J. Clin. Pharmacol. 4 : 196-200 (1972).
41. ALVAN, G. ; BERGSTROM, K. ; BORGA, O. ; ISELIUS, L. ; PEDERSEN, N. : "Family study of genetic and environmental factors determining the protein binding of propranolol". Eur. J. Clin. Pharmacol. 25 : 437-441 (1983).
42. DEAN, M. ; STOCK, B. ; PATTERSON, R.J. ; LEVY, G. : "Serum protein binding of drugs during and after pregnancy in humans". Clin. Pharmacol. Ther. 28 : 253-261 (1980).
43. PERUCCA, E. ; CREMA, A. : "Plasma protein binding of drugs in pregnancy". Clin. Pharmacokinet. 7 : 336-356 (1982).
44. VERBEECK, R.K. ; CARDINAL, J.A. ; WALLACE, S.M. : "Effect of age and sex on the plasma binding of acidic and basic drugs". Eur. J. Clin. Pharmacol. 27 : 91-97 (1984).

45. TILLEMENT, J.P.; LHOSTE, F.; GIUDICELLI, J.F. :
"Diseases and drug protein binding". Clin. Pharmacokinetic. 3 : 144-154 (1978).
46. REIDENBERG, M.M. ; AFFRIME, M. : "Influence of disease on binding of drugs to plasma proteins". An. N.Y. Acad. Sci. 226 : 115-126 (1973).
47. PIAFSKY, K.M. : "Disease-induced changes in the plasma binding of basic drugs". Clin. Pharmacokinetic. 5 : 245-262 (1980).
48. REIDENBERG, M.M. : "Alteration of binding in renal disease". Clin. Pharmacokinetic. 23 : 18-26 (1984)
49. BORGA, O. : "Drug binding in uremia" . Adv. in Pharmacol. and Ther. 7 : 143-152 (1978).
50. GUGLER, R.; AZARNOFF, D.L. : "Drug protein binding and the nephrotic syndrome" . Clin. Pharmacokinetic. 1 : 25-35 (1976).
51. GARCIA MORILLAS, M.; GIL EXTREMERA, B.; CARACUEL RUIZ, M.D. : "Differential effects of hepatic cirrhosis on the plasma protein binding of drugs". Int. J. Clin. Pharm. Res. IV (5) : 327-333 (1984).
52. GUERRERO IGBA, F.J. : "Fijación in vitro de sulfisoxazol , diacepán y digitoxina a las proteínas

plasmáticas en pacientes con E.P.O.C.". Tesis doctoral, Granada (1988).

53. RUIZ CABELLO, F. ; ERILL, S. : "Abnormal serum protein binding of acidic drugs in diabetes mellitus". Clin. Pharmacol. Ther. 36 : 691-695 (1984).

54. BENDER, A.D. ; POST, A. ; MEIER, J.P. ; HIGSON, J. E. ; REICHARD, G. : "Plasma protein binding of drugs as a function of age in adult human subjects". J. Pharm. Sci. 64 : 1711-1713 (1975).

55. EHRNEBO, M. ; AGUREIL, S. ; JALLING, B. ; BOREUS, L.O. : "Age differences in drug binding by plasma proteins . Studies on human fetuses, neonates and adults". Eur. J. Clin. Pharmacol. 3 : 189-93 (1971).

56. WALLACE, S.M. ; VERBEECK, R.K. : "Plasma protein binding of drugs in the elderly". Clin. Pharmacokin. 12 : 41-72 (1987).

57. VERBEECK, R.K. ; CARDINAL, J. : "Influence of age on plasma protein binding of basic drugs". Clin. Pharmacol. Ther. 33 : 262 (1983).

58. WALLACE, S.M. ; WHITING, B. ; RUNCIE, J. : "Factors influencing drug binding in plasma of elderly patients". Br.J. Clin. Pharmacol. 3 : 327-30 (1976).

59. O'MALLEY, K. ; LAHER, M. ; CUSACK, B. ; KELLY, J. G. : "Clinical pharmacology and the elderly patient". En : The treatment of medical problems in the elderly, editado por M.J. Denham, pp. 1-33, Baltimore, USA : University Park press, (1980).
60. GRENBLETT, D. : "Reduced serum albumin concentrations in the elderly : a report from the Boston collaborative drug surveillance program" . J. Am. Geriat. Soc. 27 : 20-22 (1979).
61. MORSELLI, P.L. : "Clinical pharmacokinetics in neonates". Clin. Pharmacokinet. 1 : 81-98 (1976).
62. KURZ, H. ; MAUSER-GANSHORN, A. ; STICKEL, H.H. : "Differences in the binding of drugs to plasma proteins from newborn and adult man" . Eur. J. Clin. Pharmacol. 11 : 463-467 (1977).
63. PRUITT, A.W. ; DAYTON, P.G. : "A comparison of the binding of drugs to adult and cord plasma". Eur. J. Clin. Pharmacol. 4 : 59-62 (1971).
64. MORSELLI, P.L. : "Problems of drugs administration in the neonatal period". En : Handbook of clinical pharmacokinetics, M. Gibaldi y L. Prescott eds. ADIS Health Science Press, Sidney (1983)
65. SILVERMAN, W.A. ; ANDERSEN, D.H. ; BLANC, W.A. ; CROZIER, D.N. : "A difference in mortality rate and

incidence of Kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimens". Pediatrics 18 : 614-625 (1956).

66. BRENDDEL, K.; DUHAMEL, R.C. : "Drug metabolism in the fetus". En : Clinical pharmacology in pregnancy, editado por H.P. Kuehne y K. Brendel, Thieme Stratton Inc., N.Y., USA (1984).

67. KRASNER, J.; GIACOIA, G.P.; YAFFE, S.J. : "Drug protein binding in the newborn infant" . An. N.Y. Acad. Sci. 226 : 101-114 (1973).

68. BRODERSEN, R. : "Free bilirubin in blood plasma of the newborn: effects of albumin, fatty acids, pH, displacing drugs and phototherapy". En : Stern, L.; Oh, W. ; Friis-Hansen, B. : Intensive care in the newborn ; vol. II, Chicago : Masson Publishing USA, pp. 331-345 (1978).

69. JACOBSEN, J.; WENNBERG, R.P. : "Determination of unbound bilirubin in the serum of newborns". Clin. Chem. 20 : 783-789 (1974).

70. STERN. L. : "Drug, the newborn infant, and the binding of bilirubin to albumin". Pediatrics 49 : 916-918 (1972).

71. RITTER, D.A. ; KENNY, J.D. : "Bilirubin binding

in premature infants from birth to 3 months". Arch. Dis. Child 61 : 352-356 (1986).

72. NAU, H.; LUCK, W.; KUHNZ, W. : "Decreased serum protein binding of diazepam and its major metabolite in the neonate during the first post-natal week relate to increased free fatty acid levels". Br. J. Clin. Pharmacol. 17 : 92-98 (1984).

73. MEDINA, J.M. : "Homeostasis energética perinatal. Adaptación metabólica a la vida extrauterina". En : Bioquímica perinatal. Coord. E. Herrera. Fundación Ramón Areces (1986).

74. SINGER, S.J. ; NICHOLSON, G.L. : "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes". Science 175 : 720-731 (1972).

75. DIAZ FLORES, L.; y cols. : "Lecciones de Citología". Talleres Arte, Granada (1977).

76. GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L.; KALMAN, S. : "Farmacología". Ed. Limusa, Mexico (1978).

77. BENET, L.Z. : "Effect of route of administration and distribution on drug action". J. Pharmacokin. Biopharm. 6 : 559-585 (1978).

78. SCHANKER, L.S. ; SHORE, P.A.; BRODIE, B.B.; HOG-

- BEN, C.A.M. : "Absorption of drugs from the stomach. 1. The rat". J. Pharmacol. Exp. Therap. 120 : 528-39 (1957).
79. HOGBEN, C.A.M. ; TOCCO, D. ; BRODIE, B.B. ; SCHANKER, L.S. : "On the mechanism of intestinal absorption of drugs". J. Pharmacol. Exp. Therap. 125 : 275-282 (1959).
80. EHRNEBO, M. : "Influence of drug binding to blood cells on pharmacokinetics". Acta Pharm. Suec. 17 : 81-82 (1980).
81. KURZ, H. ; FICHTL, B. : "Binding of drugs to tissues". Drug Metab. Rev. 14 : 467-510 (1983).
82. KATO, Y. ; HIRATE, J. ; SAKAGUCHI, K. ; HORIKOSHI, I. : "Enhancement of phenytoin binding to tissues in rats by heat treatment". J. Pharm. Pharmac. 41 : 125-126 (1989).
83. BICKEL, M.H. : "The role of adipose tissue in the distribution and storage of drugs". Progr. Drug Res. 28 : 273-303 (1984).
84. GUYTON, A.C. : "Tratado de Fisiología médica". Ed. Interamericana, Madrid (1977).
85. DIAZ FLORES, L. ; y cols. : "Lecciones de Histo-

logía". Talleres arte, Granada (1977).

86. ERILL, S. : "Paso de fármacos al sistema nervioso central". En : Perspectivas terapéuticas - Sistema nervioso central, dir. J. Esplugues, pp. 20-27. Fundación García Muñoz, Valencia (1981).

87. PALACIN, M.: "Estructura de la placenta y transferencia placentaria de metabolitos". En : Bioquímica perinatal , Coord. E. Herrera , Fundación Ramón Areces (1986).

88. LEHNINGER, A.L. : "Bioquímica". Eds. Omega, Barcelona (1978).

89. HAYES, M.J. ; LANGMAN, M.J.S. ; SHORT, A.H. : "Changes in drug metabolism with increasing age.1. Warfarin binding and plasma proteins". Br. J. Clin. Pharmacol. 2 : 69-72 (1975 a).

90. HAYES, M.J. ; LANGMAN, M.J.S. ; SHORT, A.H. : "Changes in drug metabolism with increasing age.2. Phenytoin clearance and protein binding". Br. J. Clin. Pharmacol. 2 : 73-79 (1975 b).

91. AUGUSTINSSON, K.G. : "Multiple forms of esterase in vertebrate blood plasma". An. N.Y. Acad. Sci. 94: 844-860 (1961).

92. REIDENBERG, M.M.; JAMES, M.; DRING, L.G. : "The rate of procaine hydrolysis in serum of normal subjects and disease patients". Clin. Pharmacol. Ther. 13 : 279-284 (1972).
93. DU SOUICH, P. ; ERILL, S. : "Metabolism of procaine and procainamide in patients with hepatic disease" . Clin. Pharmacol. Ther. 19 : 116 (1976).
94. SIMON, N.M.; DEL GRECO, F.; DIETS, .A.; RUBINSTEIN, H.M. : "Serum cholinesterase deficiency in renal failure". Trans. Am. Soc. Artif. Int. Org. 15 : 328-331 (1969).
95. KISCK, B. : "The procain esterase test in toxic goiter and carcinoma". Ex. Med. Surg. 3 : 357-360 (1945).
96. CARTER, M.S. : "Carbonic anhydrase : 'soenzymes, properties, distribution and functional significance". Biol. Rev. 47 : 465-513 (1972).
97. LEVY, G.; YACOBI, A. : "Effect of plasma protein binding on elimination of warfarin". J. Pharm. Sci. 68 : 805-806 (1974).
98. FESHKE, K.J.; MULLER, W.E.; WOLLERT, U.; VELDEN, L.M. : "The lone tryptophan residue of human serum albumin as part of the specific warfarin binding si-

- te". *Mol. Pharmacol.* 16 : 778-779 (1979).
99. JACOBSEN, C. : "Lysine residue 240 of human serum albumin is involved in high-affinity binding of bilirubin". *Biochem. J.* 171 : 453-459 (1978).
100. BOS, O.J.M.; FISHER, M.J.E.; WILTING, J.; JANSSEN, L.H.M. : "Mechanism by which warfarin binds to human serum albumin". *Biochem. Pharmac.* 38/12 : 1979-1984 (1989).
101. WILTING, J. ; VAN DER GIESEN, W.F.; JANSSEN, L.H.M. ; WEIDEMAN, M.M. ; OTAGIRI, M. ; PERRIN, J.H. : "The effect of albumin conformation on the binding of warfarin to human serum albumin". *J. Biol. Chem.* 3032 : 3037 (1980).
102. WILTING, J.; T'HART, B.J.; DE GIER, J.J. : "The role of albumin conformation in the binding of diazepam to human serum albumin". *Biochim. Biophys. Acta* 626 : 291-298 (1980).
103. WANWIMOLRUK, S. ; BIRKETT, D.J.; BROOKS, P.M. : "Structural requirement for drug binding to site II on human serum albumin". *Mol. Pharmacol.* 24 : 458-63 (1983).
104. KREMER, J.M.H. ; BAKKER, G.; WILTING, J. : "The role of the transition between neutral and basic

forms of human serum albumin in the kinetics of the binding to warfarin". *Biochim. Biophys. Acta* 708 : 239-242 (1982).

105. BOS, O.J.M. ; LABRO, J.F.A. ; FISHER, M.J.E. ; WILTING, J. ; JANSSEN, L.H.M. : "The molecular mechanism of the N-B transition of human serum albumin : acid/base titration and proton nuclear magnetic resonance studies on a large peptic and a large tryptic fragment of albumin". *J. Biol. Chem.* 264 : 953-959 (1989).

106. JACOBSEN, C. : "Chemical modification of the high-affinity bilirubin binding site of human serum albumin". *Eur. J. Biochem.* 27 : 513-519 (1972).

107. AARONS, L.J. ; SCHARY, W.L. ; ROWLAND, M. : "An in vitro study of drug displacement interactions : warfarin-salicylate and warfarin-phenylbutazone". *J. Pharm. Pharmac.* 31 : 322-330 (1979).

108. O'REILLY, ; GOULART, D.A. : "Comparative interaction of sulfinpyrazone and phenylbutazone with racemic warfarin. Alteration in vivo of free fraction of plasma warfarin". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 219 : 691-694 (1981).

109. KOCH-WESER, J. ; SELLERS, E.M. : "Binding of

drugs to serum albumin". N. Engl. J. Med. 294 : 311-316 (1976).

110. MULLER, W.E. : "Stereoselective plasma protein binding of drugs". En : Drug stereochemistry analytical methods and pharmacology ; editado por Wainer, I.W. & Drayer, D.E. ; pp. 227-244 , Marcel Dekker, N.Y. and Basel (1988).

111. BRUNNER, F. ; MULLER, W.E. : "The stereoselectivity of the single drug binding site of human alpha-1-acid glycoprotein (Orosomucoid)". J. Pharm. Pharmac. 39 : 986-990 (1987).

112. GEISOW, M.J. ; BEAVEN, G.H. : "Physical and binding properties of large fragments of human serum albumin". Biochem. J. 163 : 477-484 (1977).

113. KRAGH-HANSEN, V. : "Molecular aspects of ligand binding to serum albumin". Pharmacol. Rev. 33 : 17-54 (1981).

114. BRODERSEN, R. ; HONORE, B. ; LARSEN, G. : "Serum albumin - A non-saturable carrier". Acta Pharmacol. et toxicol. 54 : 129-133 (1984).

115. SUDLOW, G. ; BIRKETT, D.J. ; WADE, D.N. : "The characterization of two specific drug binding sites on human serum albumin". Mol. Pharmacol. 11 : 824-32

(1975).

116. SUDLOW, G. ; BIRKETT, D.J. ; WADE, D.N. : "Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin". *Mol. Pharmacol.* 12 : 1052-1061 (1976).

117. FESHKE, K.J. ; MULLER, W.E. ; SCHLAFFER, U. ; WOLLERT, U. : "Characterization of two important drug binding sites". En : *Progress in drug protein binding*, editado por N. Rietbrock y B.G. Woodcock, pp. 5-15; Wiesbaden : Vieweg (1981).

118. FEHSKE, K.J.; MULLER, W.E.; WOLLERT, U. : "The location of drug binding sites in human serum albumin". *Biochem. Pharmac.* 30 : 687-692 (1981).

119. FEHSKE, K.J. ; SCHLAFFER, U. ; WOLLERT, U. ; MULLER, W.E. : "Characterization of an important drug binding area on human serum albumin including the high-affinity binding sites of warfarin and azapropazone". *Mol. Pharmacol.* 21 : 387-393 (1982).

120. KRAGH-HANSEN, U.: "Relations between high-affinity binding sites for L-tryptophan, diazepam, salicylate and phenol red on human serum albumin". *Biochem. J.* 209 : 135-142 (1983).

121. BRODERSEN, R.; SJODIN, T.; SJOHOLM, I. : "Inde-

- pendent binding of ligands to human serum albumin".
J. Biol. Chem. 252 : 5067-5072 (1977).
122. SJOHOLM, I. ; EKMAN, B. ; KOBER, A. ; LJUNGSTED-
PAHLMAN, I. ; SEIVING, B. ; SJODIN, T. : "Binding of
drugs to human serum albumin XI. The specificity of
three binding sites as studied with albumin immobi-
lized in microparticles". Mol. Pharmacol. 16 : 767-
777 (1979).
123. EKMAN, B. ; SJODIN, T. ; SJOHOLM, I. : "Binding
of drugs to human serum albumin XV. Characterization
and identification of the binding sites of indome-
thacin". Biochem. Pharmac. 29 : 1759-1765 (1980).
124. BOS, O.J.M. ; REMINJ, J. ; FISHER, M.J.E. ; WIL-
TING, J. ; JANSSEN, L.H.M. : "Location and characte-
rization of the warfarin binding site of human serum
albumin". Biochem. Pharmac. 37 : 3905-909 (1988).
125. LUKAS, D.S. ; DE MARTINO, A.G. : "Binding of di-
gitoxin and some related cardenolides to human plas-
ma proteins". J. Clin. Invest. 48 : 1041 (1969).
126. ODELL, G.B. : "The dissociation of bilirubin
from albumin and its clinical implications". J. Pe-
diatrics 55 : 268-276 (1959).
127. ODELL, G.B. : "Influence of binding on the toxi-

city of bilirubin". An. N.Y. Acad. Sci. 226 : 225-37
(1973).

128. RANE, A.; LUNDE, P.K.M.; JALLING, B.; YAFFE, S.
J.; SJOQVIST, F. : "Plasma protein binding of diphe-
nylhydantoin in normal and hiperbilirubinemic in-
fants". J. Pediatrics 78 : 877-882 (1971).

129. BRODERSEN, R. ; FRIIS-HANSEN, B. ; STERN, L. :
"Drug-induced displacement of bilirubin from albu-
min in the newborn". Dev. Pharmacol. Ther. 6 : 217-
229 (1983).

130. ROBERTSON, A.; FINK, S.; KARP, W. : "Effect of
cephalosporines on bilirubin albumin binding". J.
Pediatrics 112 : 291-294 (1988).

131. BAYES GARCIA, R. ; MALDONADO LOZANO, J.; MOLINA
FONT, J.A. : "Interrelaciones entre bilirrubina y
ácidos grasos libres en recién nacidos patológicos".
An. Esp. Pediatr. 30/1 : 27-31 (1987).

132. HAMAR, C.; LEVY, G. : "Serum protein binding of
drugs and bilirubin in newborn infants and their mo-
thers". Clin. Pharmacol. Ther. 28 : 58-63 (1980).

133. ESBJORNER, E. ; JARNEROT, G. ; SANDSTROM, B.;
OSTLING, G. : "Serum albumin reserve for bilirubin
binding during pregnancy in healthy women". Obstet.
Gynecol. 73 (1) : 93-96 (1989).

134. SPECTOR, A.A. ; SANTOS, E.C. ; ASHBROOK, J.D. :
"Influence of free fatty acid concentration on drug
binding to plasma albumin". An. N.Y. Acad.Sci. 226 :
247-258 (1973).
135. SPECTOR, A.A. : "Fatty acid binding to plasma
albumin". J. Lipid. Res. 16 : 165-179 (1975).
136. TSUTSUMI, E. ; INABA, T. ; MAHON, W. ; KALOW, W. :
"The displacing effect of a fatty acid on the bin-
ding of diazepam to human serum albumin". Biochem.
Pharmac. 24 : 1361-62 (1975).
137. CHAKRABARTI, S.K. ; LALIBERTE, R. ; BRODEUR, J. :
"Influence of long-chain free fatty acids on the
binding of warfarin to bovine serum albumin". Bio-
chem. Pharmac. 25 : 2515-2521 (1976).
138. WILDING, G. ; FELDHOFF, R.C. ; VESSELL, E.S. :
"Concentration-dependent effects of fatty acids in
warfarin binding to albumin". Biochem. Pharmac. 26 :
1143-1146 (1977).
139. BIRKETT, D.J. ; MYERS, S.P. ; HAGEDORN, J. :
"Effect of fatty acids on the binding of drugs and
bilirubin to human serum albumin". En : Advances in
Pharmacology and Therapeutics, volume 7 - Biochemi-
cal Clinical Pharmacology, editado por J.P. Tille-

- ment et al., pp. 125-134. Oxford : Pergamon (1979).
140. NARANJO, C.A.; SELLERS, E.M.; KHOUW, V. : "Fatty acids modulation of meal-induced variations in diazepam free fraction". Br. J. Clin. Pharmacol. 10: 308-310 (1980 b).
141. CALVO, R.; SASIAIN, J.M.R.; CARLOS, R. : "Efecto del ácido oleico sobre la fijación de benzodiazepinas a las proteínas plasmáticas". Actas 7 reun. nac. Soc. Esp. Farm. : 199 (1982).
142. RIDD, M.J.; BROWN, K.F.; MOORE, R.G.; McBRIDGE, W.G.; NATION, R.L. : "Diazepam plasma binding in the perinatal period ; influence of non esterified fatty acids". Eur. J. Clin. Pharmacol. 22 : 153-60 (1982).
143. KUHNZ, W.; NAU, H. : "Differences in in vitro binding of diazepam and N-desmethyldiazepam to maternal and fetal plasma at birth : relation to free fatty acid concentration and other parameters". Clin. Pharmacol. Ther. 34 : 220-226 (1983).
144. KOBER, A.; LAAKSO, T.; SJOHOLM, I. : "Identification of a new binding site for drugs on human serum albumin". Citado por I. Sjöholm en : Drug protein binding, editado por M. Reidenberg y S. Erill, Esteve Foundation Symposium I, Clinical pharmacolo-

gy and therapeutics series, volume 6 : 42 (1986).

145. SJOHOLM, I. : "The specificity of drug binding sites on human serum albumin". En : Drug protein binding, editado por M. Reidenberg y S. Erill, Esteve Foundation Symposium I, Clinical pharmacology and therapeutics series, volume 6 : 36-43 (1986).

146. BREE, F. ; NGUYEN, P. ; ALBENGRES, E. ; URIEN, S. ; RIAANT, P. ; WELLING, P.G. ; TILLEMENT, J.P. : "Evidence for isoxicam binding to site I as a primary site and to site II as a secondary site of human serum albumin". Biochem. Pharmac. 38/5 : 753-58 (1989).

147. RODRIGO, M.C. ; CEBALLOS, A. ; MARINO, E.L. ; CACHAZA, J.M. ; DOMINGUEZ GIL, A. ; KUEMMERLE, H.P. : "Imidazole binding to human serum albumin". J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 26 : 320-322 (1988).

148. SCATCHARD, G. : "The attractions of proteins for small molecules and ions". An. N.Y. Acad. Sci. 51 : 660-672 (1949).

149. WEBER, G. : "Energetics of ligand binding to proteins". Adv. Protein. Chem. 29 : 1-83 (1975).

150. MATIAS, I. ; CEBALLOS, A. ; GONZALEZ VELASCO, F. ; CACHAZA, J.M. : "Thermodynamics of the binding of salicylate to human serum albumin : evidence of non

competition with imidazole". J. Pharm. Pharmac. 41 : 123-125 (1989).

151. DANON, A.; CHEN, Z. : "Binding of imipramine to plasma proteins : effect of hyperlipoproteinemia". Clin. Pharmacol. Ther. 25 : 316-321 (1979).

152. YACOBI, A.; UDALL, J.A.; LEVY, G. : "Serum protein binding as a determinant of warfarin body clearance and anticoagulant effect". Clin. Pharmacol. Ther. 19 : 552-558 (1976).

153. GRENBLETT, D.J. ; KOCH-WESER, J. : "Clinical toxicity of chlordiazepoxide and diazepam in relation to serum albumin concentration : a report from the Boston collaborative drug surveillance program". Eur. J. Clin. Pharmacol. 7 : 259-262 (1974).

154. BRIDGMAN, J.F. ; ROSEN, S.M. ; THORP, J.M. : "Complications during clofibrate treatment of nephrotic syndrome hyperlipoproteinaemia". Lancet 2 : 506-509 (1972).

155. ERILL, S.; CALVO, R.; CARLOS, R. : "Plasma protein carbamylation and decreased acidic drug protein binding in uremia". Clin. Pharmacol. Ther. 27 : 612-618 (1980).

156. KATES, R.E. ; SOKOLOSKI, T.D.; COMSTOCK, T.J. :

"Binding of quinidine to plasma proteins in normal subjects and in patients with hyperlipoproteinemia". Clin. Pharmacol. Ther. 23 : 30-35 (1978).

157. PIKE, E. ; SKUTERUD, B. ; KIERULF, P. ; LUNDE, P. K.M. : "The significance of lipoproteins of the serum binding variations of amitriptyline, nortriptyline and quinidine". Clin. Pharmacol. Ther. 32 : 599-606 (1982 b).

158. PIKE, E. ; KIERULF, P. ; SKUTERUD, B. ; BREDESEN, J.E. ; LUNDE, P.K.M. : "Drug binding in sera deficient in lipoproteins, albumin or orosomucoid". Br. J. Clin. Pharmacol. 16 : 233-239 (1983).

159. BEAUMONT, J.L. ; DACHET, C. : "Binding to plasma lipoproteins of chlorophenoxyisobutyric and nicotinic acids and their esters". Atherosclerosis 25: 255-256 (1976).

160. KEYLER, D.E. ; PENTEL, P.R. : "Effects of alpha-1-acid glycoprotein administration on propranolol binding and beta blockade in rats". Biochem. Pharmac. 38/7 : 1163-1168 (1989).

161. PIKE, E. ; SKUTERUD, B. ; KIERULF, P. ; FREMSTAD, D. ; ABDEL SAYED, S.M. ; LUNDE, P.K.M. : "Binding and displacement of basic, acidic and neutral drugs in

normal and orosomucoid deficient plasma". Clin. Pharmacokinet. 6 : 367-374 (1981).

162. STEELE, W.H. ; KING, D.J. ; BARBER, H.E. ; HAWKSWORTH, G.M. ; DAWSON, A.A. ; PETRIE, J.C. : "The protein binding of vinblastine in the serum of normal subjects and patients with Hodgkin's disease". Eur. J. Clin. Pharmacol. 24 : 683-687 (1983).

163. SVENSSON, C.K. ; WOODRUF, M.N. ; BAXTER, J.G. ; LALKA, D. : "Free drug concentration monitoring in clinical practice". Clin. Pharmacokinet. 11 : 450-69 (1986).

164. PIARSKY, K. ; BORGA, O. ; ODAR-CEDERLOF, I. ; JOHANSSON, C. ; SJOQVIST, F. : "Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease-induced elevations of plasma alpha-1-acid glycoprotein". N. Engl. J. Med. 299 : 1435-1439 (1978).

165. ROUTLEDGE, P.A. ; STARCELL, W.W. ; WAGNER, G.S. ; SHAND, D.G. : "Increased alpha-1-acid glycoprotein and lidocaine disposition in myocardial infarction". An. Intern. Med. 93 : 701-704 (1980 b).

166. YASUHARA, M. ; FUJIWARA, J. ; KITADE, S. ; KATAYAMA, H. ; KATSUHIKO, O. ; HORI, R. : "Effect of altered

plasma protein binding on pharmacokinetics and pharmacodynamics of propranolol in rats after surgery : role of alpha-1-acid glycoprotein". J. Pharmacol. Exp. Ther. 253 : 513-520 (1985).

167. LIN, T.H.; SUGIYAMA, Y.; SAWADA, Y.; SUZUKI, Y.; IGA, T. ; HANANO, M. : "Effect of surgery on serum alpha-1-acid glycoprotein concentration and serum protein binding of α -1-propranolol in phenobarbital-treated and untreated rats". Drug Metab. Disp. 15 : 138-140 (1987).

168. TILLEMENT, J.P. ; ZINI, R. ; D'ATHIS, P. ; VASSENT, G. : "Binding of certain acidic drugs to human albumin. Theoretical and practical estimation of fundamental parameters". Eur. J. Clin. Pharmacol. 7: 307-313 (1974).

169. RUIZ CABELLO, F. : "Glicosidación de proteínas y fijación alterada de fármacos en la Diabetes Mellitus". Tesis doctoral , Granada (1983)

170. SJOHOLM, I.; KOBER, A.; ODAR-CEDERLOF, I.; BORGA, O. : "Protein binding of drugs in uremic and normal serum : the role of endogenous binding inhibitors". Biochem. Pharmac. 25 : 1205-1213 (1976).

171. KOBER, A. ; SJOHOLM, I. ; BORGA, O. ; ODAR-CEDER-

LOF, I. : "Protein binding of diazepam and digitoxin in uremic and normal serum". *Biochem. Pharmac.* : 1037-1042 (1979).

172. PEREZ MATEO, M.; ERILL, S. : "Protein binding of salicylate and quinidine in plasma from patients with renal failure, chronic liver disease and chronic respiratory insufficiency". *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 11 : 225 (1977).

173. CARLOS, R.; CALVO, R.; ERILL, S. : "Plasma protein binding of etomidate in patients with renal failure or hepatic cirrhosis". *Clin. Pharmacokinet.* 4 : 144 (1979).

174. CALVO, R. : "Carbamilación de proteínas y cambios en la distribución y metabolismo plasmático de fármacos en la uremia". Tesis doctoral, Bilbao (1979).

175. CALVO, F. ; CARLOS, R. ; ERILL, S. : "Specific carbamylation of drug binding site I on human serum albumin by potassium cyanate". *Clin. Pharmacol. Ther.* 27 : 248 (1980).

176. BACHMANN, K.; VALENTOVIC, M.; SHAPIRO, R. : "A possible role for cyanate in the albumin binding defect in uremia". *Biochem. Pharmac.* 29 : 1598-1601

(1980).

177. BACHMANN, K. ; VALETOVIC, M. ; SHAPIRO, R. :
"Contribution of cyanate to the albumin binding defect of uremia". Biochem. Pharmac. 30 : 1059-1063
(1981).

178. CALVO, R.; CARLOS, R.; ERILL, S. : "Effects of carbamylation of plasma proteins and competitive displacers on drug binding in uremia". Pharmacology 24 : 248-252 (1982).

179. BAEYENS, J.M.; BARRIOS, M. : "Carbamilación de las proteínas plasmáticas por carmustina (BCNU). Repercusión sobre la fijación de fármacos". J. Pharmacol. 14 : 610 (1983).

180. PINCKARD, R.N.; HAWKINS, D.; FARR, R.S. : "The influence of acetylsalicylic acid on the binding of acetrizoate to human albumin". An. N.Y. Acad. Sci. 226 : 341-354 (1973).

181. CRAWFORD, J.S.; HOOI, H.W.Y. : "Binding of salicylic acid and sulphanilamide in serum from pregnant patients, cord blood, and subjects taking oral contraceptives". Br. J. Anaesth. 40 : 825 (1968).

182. KRAUER, B. ; KRAUER, F. : "Drugs kinetics in pregnancy". Clin. Pharmacokinet. 2 : 167 (1977).

183. YOSHIKAWA, T. ; SUGIYAMA, Y. ; SAWADA, Y. ; IGA, T. ; HANANO, M. ; KAWASAKI, S. ; YANAGIDA, M. : "Effect of late pregnancy on salicylate, diazepam, warfarin and propranolol binding : use of fluorescent probes". Clin. Pharmacol. Ther. 36 : 201 (1984).
184. HERNGREN, L. ; EHRNEBO, M. ; BOREUS, L.O. : "Drug binding to plasma proteins during human pregnancy and in the perinatal period. Studies on cloxacillin and alprenolol". Dev. Pharmacol. Ther. 6 : 110-124 (1983).
185. HERNGREN, L. ; EHRNEBO, M. ; BOREUS, L.O. : "Drug distribution in whole blood of mothers and their newborn infants. Studies of cloxacillin and flucloxacillin". Eur. J. Clin. Pharmacol. 22 : 351-358 (1982).
186. HERRERA, E., coord. : "Bioquímica perinatal". Fundación Ramón Areces (1986).
187. KUEMMERLE, H.P. ; BRENDEL, K., eds. : "Clinical pharmacology in pregnancy". Thieme-Stratton Inc. publishers, N.Y. USA (1984).
188. BENDAYAN, R. ; PIEPER, J.A. ; STEWART, R.B. ; CARRANASOS, G.J. : "Influence of age on serum protein binding of propranolol". Eur. J. Clin. Pharmacol. 26:

251-254 (1984).

189. CHIGNELL, C.F. ; VESELL, E.S.; STARKWEATHER, D. K.; BERLIN, C.M. : "The binding of sulphaphenazole to fetal, neonatal and adult human plasma albumin". Clin. Pharmacol. Ther. 12 : 897-901 (1971).

190. GORODISCHER, R. ; KRASNER, J. ; YAFFE, S.J. : "Serum protein binding of digoxin in newborn infants". Res. Com. Chem. Path. Pharmacol. 9 : 387-391 (1974).

191. NAU, H.; LUCK, W.; WEGEUEER, S. : "Serum protein binding of diazepam, desmethyldiazepam, furosemide, indomethacin, warfarin and phenobarbital in human fetus, mother and newborn infant". Pediatric Pharmacol. 3 : 219-227 (1983).

192. CRUZ, M. : "Tratado de Pediatría". Eds. Espaxs Barcelona (1983).

193. BRATTON, A.C.; MARSHALL, E.L. : "A new coupling component for sulfanilamide determination". J. Biol. Chem. 128 : 537 (1939).

194. LUNA, J.; MARTIN ANDRFS, A.; SANCHEZ CANTALEJC, E. : "Bioestadística". Eds. Grindley, Granada (1979)

195. SNEDECOR, G.W. ; COCHRAN, W.G. : "Statistical

methode". Iowa state univ. press, Ames, IA (1967).

196. METCOFF, J. ; STAER, F. : "The physiologic and clinical significance of plasma proteins and protein metabolites". N. Engl. J. Med. 236 : 26 (1947).

197. REIDENBERG, M.M. ; ERILL, S., eds. : "Drug protein binding". Esteve Foundation Symposium I, clinical pharmacology and therapeutics series , volume 6. Praeger publishers, N.Y. USA (1986).

MODIFICACIONES DE LA FIJACION
DE FARMACOS A PROTEINAS PLAS-
MATICAS EN LA EDAD PERINATAL

OBJETIVOS

1. ESTUDIAR "IN VITRO" LA FIJACION DE SULFISOXAZOL, DIACEPAN Y DIGITOXINA A LAS PROTEINAS PLASMATICAS EN LA EDAD PERIFATAL
2. INVESTIGAR SI EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN ESTA FIJACION CUANDO LA ESTUDIAMOS EN INDIVIDUOS DE DIFERENTES EDADES GESTACIONALES
3. DE EXISTIR UNA MODIFICACION SIGNIFICATIVA , COMPROBAR SI SE CORRELACIONA CON LA EDAD GESTACIONAL