

R.18.346

Te 615.275.3-053.2
ACI

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Pediatría

BIBLIOTECA UCM



530145630X

**DETERMINACION DE LA
CONCENTRACION
PLASMATICA Y SALIVAR DE SALICILATO,
EN NIÑOS CON ARTRITIS CRONICA
JUVENIL, MEDIANTE CROMATOGRFIA
LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION**



Biblioteca
de Medicina

Ella Acitores Suz

Madrid, 1991

Colección Tesis Doctorales. N.º 266/91

X-53-001256-0

© Ella Acitores Suz

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía.
Escuela de Estomatología. Ciudad Universitaria.
Madrid, 1991.
Ricoh 3700
Depósito Legal: M-33722-1991



La Tesis doctoral de D.^{ña} Elia ACITORRES SUZ

titulada Determinación de la concentración plasmática y salivares de salicilato...

Director Dr. D. Fernando Valverde Moreno

fue leída en la Facultad de MEDICINA de la
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

el día 25 de enero de 1991, ante el tribunal constituido
por los siguientes Profesores:

Presidente Prof. E. Casado de Frías

Vocal Prof. A. Nogales Espeit

Vocal Prof. A. Moreno González

Vocal Prof. J. Cuervo Limeres

Secretario Prof. M. Moro Serrano

habiendo recibido la calificación de APTO CUM LAUDE^v
por unanimidad

Madrid, a 25 de enero de 1991.

El Secretario del Tribunal,

Moro Serrano

DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA VEGETAL
FACULTAD DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION PLASMATICA Y SALIVAR DE
SALICILATO, EN NIÑOS CON ARTRITIS CRONICA JUVENIL, MEDIANTE
CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION

AUTORA: ELIA ACITORES SUZ

DIRECTORES: M. ESTRELLA LEGAZ GONZALEZ

FRANCISCO VALVERDE MORENO

MADRID 1990

**DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA.
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA VEGETAL
FACULTAD DE BIOLOGIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**DETERMINACION DE LA CONCENTRACION PLASMATICA Y
SALIVAR DE SALICILATO, EN NIÑOS CON ARTRITIS
CRONICA JUVENIL, MEDIANTE CROMATOGRAFIA LIQUIDA
DE ALTA RESOLUCION**

ELIA ACITORES SUZ

Madrid 1990

A MI FAMILIA

Quiero agradecer a las siguientes personas su colaboración y su ayuda:

A la Prof. D^a M.E. Legaz González, Prof. Titular de Fisiología Vegetal, de la Facultad de Biología, de la UCM, por haber hecho posible la realización de esta investigación. Gracias a sus orientaciones, a su dedicación, a su apoyo personal y a su espíritu científico he podido iniciarme en la Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

Al Prof. D.F. Valverde Moreno, Prof. Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la UCM, por su dirección y colaboración en el aspecto clínico de esta investigación y por sus enseñanzas, a lo largo de mi estancia como Residente en el Hospital Clínico de San Carlos.

Al Prof. D. E. Casado de Frías, Catedrático de Pediatría de la Facultad de Medicina de la UCM por facilitarme la realización de este trabajo en el Departamento de Pediatría que él dirige y por su influencia en mi formación pediátrica.

Al Prof. D. C. Vicente de Córdoba, Catedrático de Fisiología Vegetal de la Facultad de Biología de la UCM, por permitir la entrada de muestras de material no vegetal en el Laboratorio de su Departamento y por su ayuda en todo momento.

A los doctores F. Pérez y C. Fernández, residente y Jefe de Residentes, respectivamente del Departamento de Medicina Preventiva del Hospital Clínico de San Carlos, por su asesoramiento en la metodología estadística.

Al Dr. E. Vargas, Jefe de Residentes del Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Clínico de San Carlos, por sus consejos en los aspectos farmacológicos.

A D. R. Fariñas de Alba, arquitecto, por su inestimable ayuda en la informatización de los datos.

A D. A. Legaz González, arquitecto, por su colaboración y sus ideas en la realización de los gráficos.

A todos los compañeros del Departamento de Fisiología Vegetal, junto a los que pasé tantas horas trabajando y aprendiendo. Gracias por todas las dudas que me resolvieron y por su afecto.

A todo el personal sanitario (médicos, ATS, auxiliares de enfermería) del Departamento de Pediatría del Hospital Clínico, por su colaboración desinteresada y por el cariño que siempre me han mostrado.

A Química Farmacéutica Bayer S.A., por su ayuda bibliográfica y económica y por la gentileza de suministrar-nos el AAS en forma de polvo.

Finalmente quiero agradecer tanto a los pacientes como a sus familiares su comprensión y su ayuda.

INDICE

Página

Agradecimientos

Abreviaturas

Índice de figuras y tablas

I. INTRODUCCION

1. Artritis Crónica Juvenil: Definición y generalidades.	2
2. Tratamiento de la Artritis Crónica Juvenil.	5
2.1. Objetivos.	5
2.2. Tratamiento farmacológico.	5
3. Terapia salicílica en la Artritis Crónica Juvenil.	7
3.1. Propiedades farmacológicas de los salicilatos.	9
3.1.1. Efecto antiinflamatorio.	9
3.1.2. Efecto analgésico.	10
3.1.3. Efecto antitérmico.	12
3.1.4. Efecto plaquetario.	12
3.1.5. Efectos gastrointestinales.	12
3.1.6. Efectos hepáticos.	13
3.1.7. Efectos renales.	14
3.1.8. Efectos sobre el equilibrio ácido-base y sobre los electrolitos.	15
3.1.9. Efectos sobre el metabolismo.	16
3.1.10. Efectos endocrinos.	17
3.1.11. Otros efectos.	18
3.2. Toxicidad de los salicilatos.	18
3.3. Propiedades farmacocinéticas de los salicilatos.	19
3.3.1. Absorción.	19
3.3.2. Distribución:	21
a) Unión a proteínas plasmáticas.	22
b) Distribución en líquido sinovial.	22
c) Distribución en el líquido cefalorraquídeo.	22
d) Distribución a través de la placenta y de la leche materna.	23
e) Distribución en saliva.	23
3.3.3. Metabolismo y excreción.	24
3.4. Posología e implicaciones clínicas de las propiedades farmacocinéticas.	28
4. Determinación de las concentraciones de salicilato.	32
4.1. Concentraciones plasmáticas de salicilato.	33

4.1.1. Bases para la interpretación de las contracciones plasmáticas de salicilato.	34
4.1.2. Métodos analíticos:	35
a) Métodos espectrofotométricos.	36
b) Métodos espectrofluorimétricos.	37
c) Métodos cromatográficos.	37
4.2. Concentraciones salivares de salicilato.	39
4.2.1. Obtención de la muestra de saliva.	40
4.2.2. Bases para la interpretación de las concentraciones salivares de salicilato.	40
4.2.3. Métodos analíticos.	43
II. OBJETIVOS	44
III. MATERIAL Y METODOS	
1. Población.	48
2. Toma de muestras de sangre y de saliva.	49
3. Estimación del pH salivar y del pH urinario.	51
4. Reactivos.	51
5. Extracción de salicilato.	52
5.1. Extracción de salicilato total a partir de muestras de plasma.	53
5.2. Extracción de salicilato a partir de muestras de saliva.	54
6. Determinación de salicilato en plasma y en saliva mediante HPLC.	56
7. Preparación de las disoluciones patrón.	57
8. Parámetros estudiados.	58
8.1. Áreas bajo las curvas.	58
8.2. Promedios de las concentraciones salivares de salicilato y promedios de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en el intervalo de 12 horas.	59
8.3. Relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato máxima y mínima.	59
9. Método estadístico.	59
IV. RESULTADOS	
1. Resultados del método de análisis empleado.	62
1.1. Tiempos de retención.	62
1.2. Límite de detección.	62
1.3. Linealidad.	62
2. Resultados del estudio experimental.	74
2.1. Resultados individuales.	77

2.2. Resultados globales.	117
2.2.1. Concentraciones plasmáticas de salicilato total.	117
2.2.2. Concentraciones salivares de salicilato.	124
2.2.3. Valores del cociente C_pAS/C_pAS_t .	124
2.2.4. Valores del pH urinario.	125
2.2.5. Valores del pH salivar.	126
2.3. Resultados de los análisis de regresión y correlaciones.	138
2.3.1. Relación entre la C_pAS y la C_pAS_t .	138
2.3.2. Relación entre la C_pAS y el pH salivar.	138
2.3.3. Relación entre el cociente C_pAS/C_pAS_t y el pH salivar.	138
2.3.4. Relación entre la C_pAS_t y el pH urinario.	139
2.3.5. Relación entre la C_pAS y el pH urinario.	139
2.3.6. Relación entre la C_pAS_t y el cociente C_pAS/C_pAS_t .	139
2.3.7. Relación entre el cociente C_pAS/C_pAS_t y el pH urinario.	140
V. DISCUSION	157
VI. CONCLUSIONES	174
VII. BIBLIOGRAFIA	178

INDICE DE FIGURAS

- Fig. 1 - p. 8 - Fórmulas estructurales del AS y del AAS.
- Fig. 2 - p. 11 - Mecanismos de acción del AAS y derivados.
- Fig. 3 - p. 20 - Relación entre la salicilemia, los efectos farmacológicos y las complicaciones de los salicilatos.
- Fig. 4 - p. 25 - Metabolismo del AAS.
- Fig. 5 - p. 55 - Esquema que muestra las diferentes etapas seguidas por las muestras de plasma y de saliva, antes de la inyección del residuo seco reconstituido, en la columna cromatográfica.
- Fig. 6 - p. 65A- Cromatograma representativo del análisis de una disolución patrón en plasma con una concentración de AS de $116 \mu\text{g. ml}^{-1}$ y $300 \mu\text{g. ml}^{-1}$ de DFA.
- B- Cromatograma representativo del análisis de una disolución patrón en saliva con una concentración de AS de $13 \mu\text{g. ml}^{-1}$ y $100 \mu\text{g. ml}^{-1}$ de DFA.
- Fig. 7 - p. 67 - Cromatogramas representativos del análisis de las 5 muestras de plasma, obtenidas del paciente J.O.A., a las 0h, 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de AAS.
- Fig. 8 - p. 69 - Cromatogramas representativos del análisis de las 5 muestras de saliva, obtenidas del paciente J.O.A., a las 0h, 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de AAS.
- Fig. 9 - p. 71 - Rectas de calibración de la concentración plasmática de salicilato total. En A: Calibración directa; $y = -0'226 + 0'179x$, $r=0'91$. En B: Calibración indirecta, referida a la difenilamina (DFA); $y = -0'124 + 0'151x$, $r=0'96$.
- Fig. 10- p. 73 - Rectas de calibración de la concentración salivar de salicilato. En A: Calibración

directa; $y = 0'175 + 3'631x$, $r=0'96$. En B: Calibración indirecta, referida a la difenilamina (DFA); $y = 0'073x + 1'303x$, $r=0'99$.

- Fig. 11- p. 80 - Paciente nº 1 (E.A.P.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.12- p. 84 - Paciente nº 2 (A.C.R.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig. 13- p. 88 - Paciente nº 3 (G.C.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig. 14- p. 92 - Paciente nº 4 (A.R.P.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig. 15- p. 96 - Paciente nº 5 (S.M.V.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y

12 horas después de la administración de aspirina.

Fig. 16- p.100 - Paciente nº 6 (S.S.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/ C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

Fig.17- p. 104 - Paciente nº 7 (A.M.V.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/ C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

Fig.18- p. 108 - Paciente nº 8 (C.M.L.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/ C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

Fig.19- p. 112 - Paciente nº 9 (J.O.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/ C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

Fig.20- p. 116 - Paciente nº 10 (R.G.S.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/ C_pAS_t), entre 0 y

12 horas después de la administración de aspirina.

- Fig.21- p. 122 - Variación de la concentración plasmática media de salicilato total (C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- Fig.22- p. 129 - Variación de la concentración salivar media de salicilato (C_sAS), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- Fig.23- p. 132 - Variación del valor medio de la relación entre la concentración salivar de salicilato y la concentración plasmática de salicilato total (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- Fig.24- p. 135 - Variación del valor medio del pH en orina, entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- Fig.25- p. 137 - Variación del valor medio del pH en saliva, entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- Fig.26- p. 142 - Relación entre la concentración salivar de salicilato (C_sAS) y la concentración plasmática de salicilato total (C_pAS_t), en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 pares de muestras de plasma y de saliva de cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.27- p. 144 - Relación entre la concentración salivar de salicilato (C_sAS) y el pH en saliva en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de saliva en cada niño, en

el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

- Fig.28- p. 146 - Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_sAS/C_pAS_t) y el pH en saliva, en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma y 5 de saliva en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.29- p. 148 - Relación entre la concentración plasmática de salicilato total (C_pAS_t) y el pH en orina, en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma y 5 de orina en cada niño en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.30- p. 150 - Relación entre la concentración salivar de salicilato (C_sAS) y el pH en orina, en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de saliva y 5 de orina en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.31- p. 152 - Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_sAS/C_pAS_t) y la concentración plasmática de salicilato total (C_pAS_t), en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 pares de muestras de plasma y de saliva en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.
- Fig.32- p. 154 - Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_sAS/C_pAS_t) y el pH en orina en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma, 5 de saliva y 5 de

orina en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.

INDICE DE TABLAS

- I-p. 3 - Formas clínicas de comienzo de la ACJ.
- II-p. 6 - Principales fármacos utilizados en el tratamiento de la ACJ.
- III-p. 9 - Diferentes preparados salicílicos.
- IV-p. 27 - Constantes de 1^{er} orden y constantes de Michaelis recogidas en varios estudios sobre cinética de eliminación de salicilatos.
- V-p. 48 - Perfil clínico de los pacientes.
- VI-p. 76 - Determinaciones practicadas en sangre en los 10 pacientes, tras 9 días de tratamiento con AAS.
- VII-p. 78 - Paciente nº 1 (E.A.P.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- VIII-p. 82 - Paciente nº 2 (A.C.R.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

- IX-p. 86 - Paciente nº 3 (G.C.A.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- X-p. 90 - Paciente nº 4 (A.R.P.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- XI-p. 94 - Paciente nº 5 (S.M.V.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

- XII-p. 98 - Paciente nº 6 (S.S.A.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- XIII-p. 102 - Paciente nº 7 (A.M.V.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- XIV-p. 106 - Paciente nº 8 (C.M.L.). Varición de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

- XV-p. 110 - Paciente nº 9 (J.O.A.). Varicación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_pAS/C_sAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- XVI-p. 114 - Paciente nº 10 (R.G.S.). Varicación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS), de la relación entre ambas (C_pAS/C_sAS_t), del pH urinario y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se detallan también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.
- XVII-p. 119 - Relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t) a las 0 y 12 horas de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados.
- XVIII-p.120 - Valores de la medida (\bar{X}), error standard (ES) y rango de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a las 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de aspirina.
- XIX-p. 123 - Relación entre las concentraciones máxima y mínima de salicilatos total en plasma (Rel. máx: mín.) en los 8 pacientes que alcanzaron el estado de equilibrio.

- XX-p. 127 - Valores de la media (\bar{x}), error estandar (ES) y rango de las concentraciones salivares de salicilato en los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a las 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de aspirina.
- XXI-p. 130 - Valores de la media (\bar{x}), error estandar (ES) y rango del cociente (C_pAS/C_pAS_t), en los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a las 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de aspirina.
- XXII-p. 133 - Resultados de la relación entre el promedio de las concentraciones salivares de salicilato (\bar{C}_pAS) y el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (\bar{C}_pAS_t), en el intervalo de 12 horas ($\bar{C}_pAS/\bar{C}_pAS_t$), en los 8 pacientes en estado de equilibrio.
- XXIII-p.155 - Resumen de las correlaciones estudiadas. Se detalla el coeficiente de correlación y la significación estadística.
- XXIV-p. 170 - Comparación de los valores de pH salivar obtenidos en el estudio de Levy et al. y la presente investigación.

ABREVIATURAS

AAS:	Acido acetilsalicílico
ABC:	Área bajo la curva "concentración frente al tiempo"
ACJ:	Artritis Crónica Juvenil
AG:	Ácido gentísico
AGU:	Ácido gentisúrico
AINE:	Antiinflamatorio no esteroideo
AR:	Artritis Reumatoide
AS:	Ácido salicílico
AS ₁ :	Ácido salicílico libre
AS _t :	Ácido salicílico total
ASU:	Ácido salicilúrico
CL:	Cromatografía Líquida
CG:	Cromatografía gaseosa
C _p :	Concentración plasmática
C _p AS ₁ :	Concentración plasmática de salicilato libre
C _p AS _t :	Concentración plasmática de salicilato total
C _s :	Concentración salivar
C _s AS:	Concentración salivar de salicilato
C _s AS _t :	Promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en el intervalo de 12 horas
C _s AS:	Promedio de las concentraciones salivares de salicilato, en el intervalo de 12 horas
C _s AS _t :	Relación entre la concentración salivar de salicilato y la concentración plasmática de salicilato libre
C _p AS/C _s AS _t :	Relación entre la concentración salivar de salicilato y la concentración plasmática de salicilato total
C _s AS/C _p AS _t :	Relación entre el promedio de las concentraciones salivares de salicilato y el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en el intervalo de 12 horas
CV:	Coefficientes de variación (%)
DFA:	Difenilamina
DS:	Desviación típica
ES:	Error estándar
HPLC:	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
N:	Tamaño de la muestra
PG:	Prostaglandina
Rel. max:	
min:	Relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato máxima y mínima
SAG:	Acilglucurónido del AS
SPG:	Glucurónido fenólico del AS
X:	media de la muestra

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCIÓN

1. ARTRITIS CRÓNICA JUVENIL: DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

La Artritis Crónica Juvenil (ACJ) es una enfermedad sistémica del tejido conectivo, de naturaleza inflamatoria y de curso crónico, que tiene especial predilección por la sinovial articular, pero que también puede afectar a otras estructuras del aparato locomotor y diversos órganos (1).

En la reunión de expertos celebrada en Oslo, en 1977 bajo los auspicios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se definió la ACJ como una artritis de más de tres meses de duración, en un sujeto menor de 16 años y en el que se excluyen otras causas de artritis. Como la definición es muy amplia, la aparición de psoriasis, de una enteropatía o de cualquier otra entidad definida, obliga a excluir del diagnóstico de ACJ, a un paciente que cumplía los requisitos anteriores. La evolución es por tanto fundamental, para confirmar la primera impresión diagnóstica.

Basándose en criterios puramente clínicos se reconocen tres formas de comienzo en esta enfermedad; ACJ de comienzo sistémico o enfermedad de Still, ACJ poliarticular y ACJ pauciarticular. Para catalogar a un paciente dentro de una de estas formas es conveniente observarle al menos durante 6 meses y tener en cuenta dos reglas que proponen Mozziconacci (2):

- a) Considerar como sistémica toda ACJ que presente en un momento cualquiera de su evolución, un período duradero de fiebre elevada con grandes oscilaciones.

b) Considerar como pauciarticular sólo aquellas formas en las que la afectación está limitada como máximo a 4 articulaciones. Todas las articulaciones se contabilizarán singularmente, salvo el raquis y las articulaciones del carpo y del tarso (3).

Aunque la Asociación Americana de Enfermedades Reumáticas (ARA) y la Liga Europea contra las Enfermedades Reumatológicas (EULAR) reconocen únicamente las 3 formas clínicas antes mencionadas, hay motivos en la actualidad, para subdividir las formas poliarticular y pauciarticular en dos subgrupos (Tabla I).

Tabla I. Formas clínicas de comienzo de la ACJ.

I-ACJ de comienzo poliarticular:
- con factor reumatoide Ig M +
- con factor reumatoide Ig M -
II-ACJ de comienzo pauciarticular:
- Tipo I - asociada a uveítis crónica y anticuerpos antinucleares (ANA) +
- Tipo II- asociada a HLA-B27
III-ACJ de comienzo sistémico.

La ACJ es una de las más importantes enfermedades crónicas de la infancia. Su incidencia no está bien precisada. Alrededor del 5% de todos los casos de Artritis Reumatoide (AR) se inician en la edad pediátrica (4). La pre-

valencia estimada por diversos autores para la ACJ varía de 0,1 a 1,1 por 1000 habitantes (5).

En cuanto a la edad de comienzo se observan dos claros picos de mayor frecuencia, el primero entre los 2 y los 5 años y el segundo entre los 7 y los 11 años. El sexo femenino presenta una clara predilección respecto a los varones (3:1) para esta enfermedad (6).

La etiología permanece aún desconocida. Actualmente, se piensa que es una afección de causa multifactorial, con un presumible sustrato constitucional. Se postulan dos hipótesis sobre su etiopatogenia: Una sostiene que la enfermedad resultaría de la infección por un microorganismo todavía no identificado y otra propone que se trata de una reacción de hipersensibilidad o autoinmune ante un estímulo desconocido, en un huésped genéticamente predispuesto (7).

La lesión anatomopatológica principal de la ACJ es una sinovitis crónica no supurada. Los tejidos sinoviales se vuelven edematosos, hiperémicos y resultan infiltrados por linfocitos y células plasmáticas. Si la sinovitis persiste el cartilago articular acaba erosionándose y destruyéndose, dando lugar a deformidad, subluxación, fusión de huesos y anquilosis articular (4). Sin embargo el pronóstico de esta enfermedad no es siempre malo, ya que el 50-72% de los casos de ACJ curan o dejan secuelas leves (8).

La evolución de esta enfermedad depende de una serie de factores: entre otros, de un diagnóstico precoz, de un

tratamiento farmacológico y fisioterapéutico precoz, correcto y vigilado, de la forma clínica de comienzo, de la edad de inicio de la enfermedad y finalmente de la colaboración de los padres y del apoyo psicosocial.

2. TRATAMIENTO DE LA ACJ

2.1. Objetivos

El tratamiento de esta enfermedad debe cubrir los siguientes objetivos:

- Aliviar el dolor y la inflamación articular
- Mantener una buena funcionalidad articular
- Prevenir deformaciones y complicaciones
- Asegurar un normal desarrollo psicofísico, facilitando la integración del niño en la vida familiar, escolar y social.

Resulta evidente que conseguir estas metas resultará posible sólo gracias a una estrecha colaboración de pediatras, psicólogos, ortopedas, fisioterapeutas, oftalmólogos... (9,10).

2.2. Tratamiento farmacológico

El niño con ACJ, además de la medidas generales y de la necesaria fisioterapia, precisa un tratamiento medicamentoso y en contadas ocasiones de un tratamiento quirúrgico (11).

El tratamiento farmacológico, aunque no es específico, pues desconocemos la etiología de esta enfermedad, sí ayuda a controlar el dolor y los signos inflamatorios. Existe una gran variedad de preparados, algunos ampliamente experimentados (salicilatos, corticoides), otros menos utilizados por sus efectos secundarios (inmunosupresores) y algunos escasamente ensayados, por el momento o en fase de experimentación (transfer factor, levamisol, interferón, hormonas tímicas etc.) (12,13,14). En la tabla II se muestran los principales fármacos empleados en el tratamiento de esta enfermedad.

Tabla II. Principales fármacos utilizados en el tratamiento de la ACJ.

1. Antiinflamatorios no esteroideos:

- Salicilatos
- Indometacina
- Fenilbutazona
- Tolmetín
- Ibuprofén
- Naproxén
- Acido mefenámico
- Diclofenac
- Piroxicam

2. Antiinflamatorios esteroideos:

- Prednisona

3. Antirreumáticos de acción lenta:

- Sales de oro
 - Antipalúdicos: Hidroxicloroquina
Cloroquina
 - Penicilamina
 - Inmunosupresores: Clorambucil
Ciclofosfamida
Azatriopina
 - Levamisol
 - Hormonas tímicas
 - Factor transfer
-

Actualmente, incluso tras el descubrimiento de los nuevos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), para la mayoría de los pediatras y reumatólogos, la aspirina y sus derivados siguen constituyendo una droga de elección en el tratamiento de la ACJ (15,16,17,18,19). En ello probablemente influyen dos factores, el primero, el conocimiento que el médico tiene de este producto y por lo tanto de sus efectos secundarios y el segundo, el que ninguno de los productos modernos (a pesar de que haya que reconocerles, en general, una forma de administración más cómoda y una menor incidencia de efectos secundarios) ha demostrado ser claramente superior al ácido acetilsalicílico (AAS) (20).

A continuación nos vamos a referir exclusivamente al tratamiento farmacológico de esta enfermedad, con salicilatos.

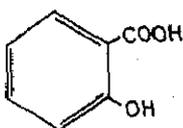
3. TERAPIA SALICILICA EN LA ACJ

Desde antiguo se usaron las cortezas de álamo y de sauce, que contenían salicina, para tratar el dolor, la gota y la fiebre. En 1852 se sintetizó por primera vez el AAS, pero hasta 1893 no se desarrolló un método para sintetizar este producto a gran escala (21).

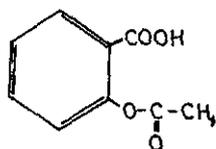
El ácido salicílico (AS) o ácido ortohidroxibenzoico, es tan irritante que sólo puede usarse externamente, y por ello se han sintetizado varios derivados de este ácido para el uso sistémico. Se distinguen 2 grupos:

- a) Esteres del AS, obtenidos por sustitución en el grupo carboxilo.
- b) Esteres de salicilato de ácidos orgánicos, en los que el grupo carboxilo del AS se conserva y la sustitución se hace en el grupo OH. Por ejemplo la aspirina es un éster del ácido acético (Figura 1).

Figura 1. Fórmulas estructurales de AS y del AAS



AS



AAS

Los dos preparados más comúnmente empleados, de salicilato, para uso sistémico son el AAS y el salicilato de sodio. Recientemente han surgido, en el mercado farmacéutico, nuevos preparados, derivados de los salicilatos, con una menor acción irritante sobre la mucosa gástrica: la aloxipirina, el benorilato, el diflunisal, el salsalato, y el acetilsalicilato de lisina. Este último tiene la ventaja de poder administrarse por vía parenteral (22,23).

Los salicilatos pueden presentarse bajo distintas fórmulas farmacéuticas; las formas micronizadas, efervescentes o solubles de AAS se absorben más rápidamente que

la forma tradicional (24). Las fórmulas con recubrimiento entérico producen menos lesiones gastroduodenales, pero su absorción es más lenta. Esta absorción se ha mejorado con los gránulos de recubrimiento entérico (25). En la tabla III se muestra una relación de los salicilatos más comúnmente empleados en el tratamiento de la ACJ.

Tabla III. Diferentes preparados salicílicos.

-
- AAS
 - Salicilato de sodio
 - Salicilato de colina, salicilato de magnesio
 - Aloxipirina (polímero de óxido de aluminio y de AAS)
 - Benorilato (éster de paracetamol y de AAS)
 - Diflunisal (salicilato difluorado no acetilado)
 - Salsalato (ácido salicílsalicílico)
 - Acetilsalicilato de lisina
-

3.1. Propiedades farmacológicas de los salicilatos

3.1.1. Efecto antiinflamatorio

La eficacia de la aspirina y de otros salicilatos con un grupo acetilo se debe, en gran parte, a su capacidad para inhibir la biosíntesis de prostaglandinas (PG), sustancias que intervienen en la respuesta inflamatoria (26). Las PG favorecen la vasodilatación y en menor grado el edema. En la artritis y en otros procesos inflamatorios, en los que se producen lesiones o traumas de las membranas celulares, se estimula la formación de PG. Actualmente es conocido que los salicilatos con un grupo

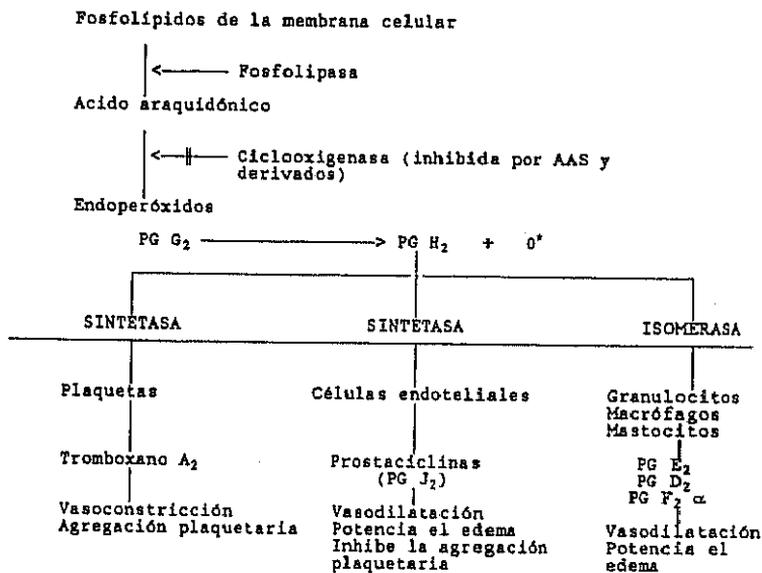
acetilo actúan inhibiendo la actividad de la ciclooxigenasa (Fig. 2) como consecuencia se inhibe la síntesis de PG, prostaciclina y tromboxanos, así como la formación de superóxidos, los cuales tienen una gran importancia en el desarrollo de la inflamación, según se ha comprobado recientemente (27,28). El AAS también obstaculiza los mediadores químicos de la calicreína e inhibe la adherencia de los granulocitos que dañan la vasculatura. También estabiliza los lisosomas e inhibe la emigración de los polimorfonucleares y macrófagos hacia el lugar de la inflamación. De esta manera se disminuye la actividad lesiva sobre el tejido, limitando las consecuencias de la reacción autógeno-anticuerpo (29).

3.1.2. Efecto analgésico

Se debe también a la inhibición de la ciclooxigenasa y a la no formación de superóxidos y PG, principales mediadores del dolor (27). Parece que también deprimen el tálamo óptico, uno de los centros fundamentales de las sensaciones dolorosas (30).

El AAS es muy útil en el tratamiento de dolores moderados o leves de origen preferentemente periférico y con componente inflamatorio (27,31).

Fig. 2. Mecanismo de acción del AAS y derivados



O*: Radical superóxido

3.1.3. Efecto antitérmico

La reducción de la temperatura elevada se relaciona también con la inhibición de la síntesis de PG, ya que hay evidencias de que la temperatura elevada se encuentra mediada por la liberación de dichas sustancias. La reducción de la fiebre se produce por vasodilatación (32).

3.1.4. Efecto plaquetario

Los derivados acetilados del AS producen una inhibición de la agregación plaquetaria, por la pérdida, de forma irreversible, de la capacidad oxidante de la ciclooxigenasa (32,33). La exposición breve a la aspirina acetilada e inactiva la ciclooxigenasa y dado que las plaquetas no pueden sintetizar nuevo enzima, se altera la producción de tromboxano-A₂ durante toda la vida de las plaquetas. Por ello el efecto del AAS y de sus derivados, sobre la agregación plaquetaria, dura 8-11 días (34). Esta propiedad se utiliza para la profilaxis de los accidentes cerebrovasculares, de la enfermedad coronaria y de la trombosis arterial.

3.1.5. Efectos gastrointestinales

La aspirina produce irritación gástrica. Este efecto se debe a un doble mecanismo: por un lado, a la acción local de este fármaco, que permite la retrodifusión del ácido a la mucosa e induce la lesión hística, y por otro lado, a la inhibición de la síntesis de PG gástricas,

que actuarían como protectoras (35). En los animales, la administración de PG ha prevenido las erosiones gástricas (28). A fin de evitar las alteraciones digestivas se han recomendado las formas tamponadas, las microencapsuladas y las de cubierta entérica (1).

Los salicilatos pueden producir vómitos a consecuencia de la estimulación del sistema nervioso central, después de la absorción de grandes dosis.

Es común que se produzca un pequeño aumento en la pérdida fecal de sangre con la administración de aspirina; la pérdida diaria normal de cerca de 1 ml aumenta a 4 ml/día aproximadamente, utilizando la aspirina a dosis habituales (35).

3.1.6. Efectos hepáticos

El AAS puede causar hepatitis leve, por lo común subclínica, que se manifiesta por una elevación de las transaminasas (36). Atheya et al. (37) encontraron transaminasas elevadas en el 65% de los pacientes con ACJ, que habían seguido tratamiento con aspirina. En otro estudio, realizado por Doughy et al. (38), la toxicidad hepática sólo se observó en el 16% de los pacientes tratados. La hepatotoxicidad es dosis dependiente y suele aparecer con salicilemias superiores a 25 mg/100 ml. Esta hepatitis nunca evoluciona a la cronicidad y suele ser reversible, incluso si se continúa el tratamiento (39).

Raramente se ha observado una hepatotoxicidad severa que justifique la interrupción de la saliciloterapia. Desde que en 1982 se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el Síndrome de Reye y el consumo de AAS, se pensó que este síndrome podría considerarse una intoxicación salicilica. La misma sintomatología clínica en ambos procesos y la similitud en las lesiones hepáticas, puestas de manifiesto por microscopía óptica, apoyaban esta hipótesis. Sin embargo, posteriormente se encontraron diferencias importantes entre el salicilismo crónico y el S. de Reye: El perfil característico de los aminoácidos plasmáticos en el S. de Reye (incremento de la glutamina, alanina y lisina) contrastaba con la normalidad o disminución de aminoácidos plasmáticos en la intoxicación salicilica. Por otro lado las alteraciones estructurales, observadas por microscopio electrónico en el S. de Reye (daño mitocondrial) no han sido detectadas en el salicilismo crónico (40,41).

En la actualidad, no se descarta la posibilidad de que el AAS actúe en asociación con los virus, en el desencadenamiento del S. de Reye, ya que la mayoría de los pacientes han ingerido AAS en los pródromos de la enfermedad viral.

3.1.7. Efectos renales

Los salicilatos pueden producir una disminución reversible del índice de filtración glomerular, en perso-

nas con un trastorno renal previo, hecho que puede ocurrir también, aunque rara vez, en personas normales. Aunque el uso crónico de salicilatos sólo rara vez se asocia con nefrotoxicidad, la ingesta prolongada y excesiva de mezclas analgésicas, que contengan salicilatos y paracetamol o salicilamida pueden producir necrosis papilar y nefritis intersticial en ciertos individuos (34).

3.1.8. Efectos sobre el equilibrio ácido-base y sobre los electrolitos

A dosis terapéuticas los salicilatos producen una alcalosis respiratoria extra e intracelular que pronto se compensa con un aumento de la excreción renal de bicarbonato, acompañado de sodio y potasio. Ésta es la etapa de alcalosis respiratoria compensada. Cuando las dosis tóxicas son grandes se produce una depresión respiratoria por el salicilato, incrementándose la PCO_2 plasmática y disminuyendo el pH sanguíneo. Como la concentración plasmática de bicarbonato ya es baja, el estado ácido-base en esta etapa es esencialmente una acidosis respiratoria no compensada, a la que se superpone una acidosis metabólica verdadera, causada por la acumulación de ácidos, debida a tres procesos: por un lado, los derivados del AS se disocian al pH plasmático y en dosis tóxicas desplazan unos 2-3 mEq/l de bicarbonato plasmático, en 2º lugar la depresión vasomotora, causada por las dosis tóxicas de salicilato, deteriora la función renal, con la consiguiente acu-

mulación de ácidos fuertes de origen metabólico y en tercer lugar, los ácidos orgánicos (ác. pirúvico, ácido láctico y acetoácido) se acumulan secundariamente a la perturbación inducida por los salicilatos en el metabolismo de los hidratos de carbono (32,42).

Esta serie de acontecimientos también produce alteraciones en el equilibrio de agua y electrolitos. La baja PCO_2 plasmática produce menor reabsorción tubulorrenal de bicarbonato y mayor excreción renal de sodio, potasio y agua. Además por medio de la sudoración inducida por los salicilatos y por la pérdida insensible de agua a través de los pulmones durante la hiperventilación, se produce rápidamente una deshidratación (34).

3.1.9. Efectos sobre el metabolismo

Los salicilatos desacoplan la fosforilación oxidativa provocando hipertermia, glucogenosis y acidosis metabólica.

Sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, los efectos de los salicilatos son complejos. La aspirina a dosis usuales tiene un efecto en la tolerancia a la glucosa. Los salicilatos disminuyen la concentración de glucosa sanguínea en diabéticos, pero en sujetos normales, los niveles elevados de esta droga pueden aumentar la glucemia, como resultado de la inducción de la glucosa-6-fosfatasa, por los salicilatos (28,34).

Sobre el metabolismo del nitrógeno, el salicilato a dosis tóxicas, causa un significativo balance negativo de nitrógeno, caracterizado por aminoaciduria.

Los salicilatos también reducen la lipogénesis bloqueando parcialmente la incorporación de acetato a los ácidos grasos. También inhiben la lipólisis estimulada por la adrenalina en las células adiposas y desplazan a los ácidos grasos de cadena larga, de los sitios de unión en las proteínas plasmáticas humanas. La combinación de estos efectos producen un aumento de la entrada y de la oxidación de los ácidos grasos en el músculo, hígado y otros tejidos y una disminución de las concentraciones plasmáticas de los ácidos grasos libres, fosfolípidos y colesterol (34).

3.1.10. Efectos endocrinos

Sobre la corteza suprarrenal las dosis muy grandes de salicilatos estimulan la secreción de esteroides por la corteza suprarrenal y aumentan transitoriamente las concentraciones plasmáticas de adrenocorticoides libres, por desplazamiento de las proteínas plasmáticas. Sin embargo hay abundantes pruebas de que los efectos antiinflamatorios de los salicilatos son independientes de estos efectos sobre los adrenocorticoides.

La administración crónica de salicilatos disminuye el yodo ligado a las proteínas plasmáticas y la captación y depuración tiroidea de yodo, pero aumenta el consumo de

oxígeno y la desaparición de tiroxina y triyodotironina de la circulación (34).

3.1.11. Otros efectos

La acción uricosúrica de los salicilatos depende mucho de las dosis. Con dosis diarias bajas de 2 gramos o menos, la aspirina aumenta los valores de ácido úrico plasmático, en tanto que dosis superiores a 4 gramos al día reducen la concentración de uratos en plasma a menos de 2,5 mg/100 ml (28,32).

Las dosis tóxicas de salicilato afectan directamente al aparato cardiovascular y es posible que depriman la función cardíaca.

3.2. Toxicidad de los salicilatos

La concentración de AS en sangre, clínicamente eficaz, está muy cerca de la concentración tóxica, por lo que no es infrecuente el salicilismo. En las formas leves la intoxicación salicilica se manifiesta por cefalea, zumbidos de oídos, irritabilidad, visión borrosa, náuseas, vómitos, congestión nasal y taquipnea. Grados más intensos de salicilismo se caracterizan por hiperventilación, confusión mental, alteraciones del equilibrio ácido-base, incluso coma y colapso.

La gravedad de la intoxicación está en función de la salicilemia. Si se encuentra entre 50 y 80 mg/100 ml se considera una intoxicación discreta, entre 80 y 110 mg/100

ml moderada, entre 110 y 160 mg/100 ml una intoxicación grave y por encima de 160 mg/100 ml puede ser mortal.

En la figura 3 se observan los efectos farmacológicos y las complicaciones de los salicilatos, en relación a la salicilemia, de una manera esquemática.

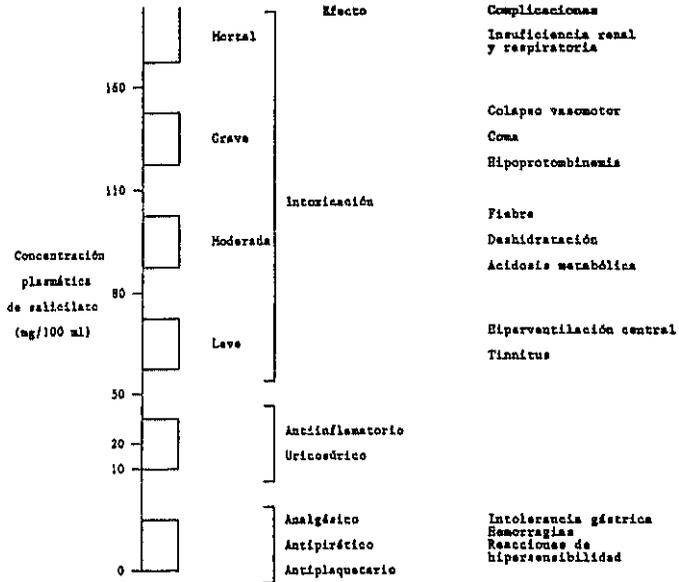
La frecuencia de intoxicación salicílica en el tratamiento de la ACJ es muy variable, como lo demuestran los resultados de diferentes autores. Mäkelä et al. (43) encontraron signos de salicilismo en el 47% de los niños con ACJ, tratados en su estudio, con dosis de AAS de 100 mg/kg/día, oscilando sus niveles de AS en plasma entre 15 y 50 mg/100 ml. Calabro et al. (44) en una revisión de 100 niños con ACJ tratados con aspirina a 90 mg/kg/día sólo encontraron un 8% de salicilismo, con concentraciones plasmáticas entre 15 y 35 mg/100 ml).

3.3. Propiedades farmacocinéticas de los salicilatos

3.3.1. Absorción

Los salicilatos ingeridos por vía oral se absorben rápidamente, parte en el estómago y otra parte en el intestino delgado superior (45). La absorción de salicilato se produce por un mecanismo de difusión pasiva de las moléculas liposolubles no ionizadas, a través de las membranas gastrointestinales. La absorción está determinada por numerosos factores, particularmente la desintegración y di-

Figura 3. Relación entre la salicilemia y los efectos farmacológicos y las complicaciones de los salicilatos (tomado de Shearn (28)).



solución si se toman tabletas, el pH en las superficies mucosas, la cantidad de comida en el estómago, la postura, el ejercicio etc. (21). Si el pH gástrico aumenta, el salicilato está más ionizado y esto tiende a disminuir la absorción, pero por otro lado si el pH aumenta en el estómago también aumenta la solubilidad de esta droga y por tanto su absorción. La presencia de alimentos retrasa la absorción de salicilatos (46,47).

En un estudio realizado por Rowland et al. (48) tras la administración de una disolución acuosa de aspirina, se observó que el AAS seguía una cinética de primer orden. La concentración plasmática se incrementaba rápidamente, alcanzándose la concentración máxima a los 25 minutos de la ingesta y declinando posteriormente de forma rápida.

3.3.2. Distribución

Después de su absorción el salicilato se distribuye en casi todos los tejidos del organismo y en casi todos los líquidos transcelulares, principalmente por procesos pasivos dependientes del pH. Por ejemplo puede detectarse en el líquido sinovial, en el líquido cefalorraquídeo (LCR), en el líquido peritoneal, en la saliva y en la leche (34).

Según Graham et al. (49) el volumen de distribución para los salicilatos en los adultos varía de 9,6 a 12,7 litros. Levy y Yaffey (50) calcularon el volumen apa-

rente de distribución para los niños, en 162 ml/kg. Según el estudio realizado por Wilson et al. (51) esta cifra sería algo inferior, alrededor de 120-140 ml/kg.

a) Unión a proteínas plasmáticas. A concentraciones terapéuticas, el 80-90% del salicilato se une a las proteínas plasmáticas, especialmente a la albúmina (52).

Cuando las concentraciones plasmáticas aumentan, la fracción libre de AS (fracción de AS no unida a proteínas) también aumenta (53). En la Artritis Reumatoide puede existir hipoalbuminemia dando lugar a un nivel proporcionalmente mayor de salicilato libre en plasma. El salicilato compite con la tiroxina, la triyodotiroxina, la penicilina, la fenitoína, la bilirrubina, el triptófano, la sulfínpirazona, posiblemente los esteroides, el ácido úrico y el naproxeno por los sitios de unión con las proteínas plasmáticas (34).

b) Distribución en el líquido sinovial. La unión del AS a las proteínas del líquido sinovial es considerablemente más baja que en plasma y esto comúnmente se explica por las menores concentraciones de albúmina de dicho fluido. Soren demostró que la aspirina permanece en el líquido sinovial tiempo después de haber desaparecido del plasma (54).

c) Distribución en el LCR. Se ha encontrado que tanto el AS como el AAS difunden lentamente en el LCR, debido al alto grado de ionización del AS a pH de 7,4 (pH plasmá-

tico). Si el pH plasmático desciende, se incrementa la entrada de AS en LCR (55).

- d) Distribución a través de la placenta y secreción en la leche materna. El AS atraviesa fácilmente la placenta, siendo las concentraciones plasmáticas neonatales más altas que las concentraciones maternas (56).

Los salicilatos se distribuyen enseguida en la leche de mujer y aunque después de una sola dosis, la cantidad ingerida por el lactante es pequeña, son posibles considerables exposiciones a salicilatos si la madre ingiere grandes cantidades de ellos (57,58).

- e) Distribución en la saliva. Los salicilatos, como la mayoría de los fármacos, pasan a la saliva por difusión pasiva. En ello influyen varios factores. El primero es la fijación del fármaco a las proteínas plasmáticas, ya que la unión de la droga a las proteínas en la saliva es prácticamente despreciable (59,60) (esto es consistente con el bajo contenido protéico de este fluido, aproximadamente 300 mg/100 ml) (61). Varios estudios con otras drogas han demostrado que sólo la fracción libre de un ácido débil es capaz de difundir a través del epitelio salivar, alcanzándose rápidamente un equilibrio (62,63). El segundo factor del que depende el paso de un fármaco a la saliva es su liposolubilidad, propiedad que determina la velocidad de difusión de las sustancias a través de las membranas (59,60). El tercer factor es el grado de ionización del fármaco en esos

fluidos, el cual depende de la constante de disociación y del pH de los fluidos. La relación entre la concentración salivar y la concentración plasmática de ácidos débiles puede preverse a partir de la siguiente fórmula:

$$\frac{S}{P} = \frac{1 + 10 (pH_s - pK_a)}{1 + 10 (pH_p - pK_a)}$$

pK_a = logaritmo negativo de la constante de disociación de un ácido.

donde S es la concentración de la droga, P es la concentración de la droga libre en el plasma, pH_s es el pH salivar, pH_p es el pH plasmático y pK_a es el pK del ácido (59,64,65). Por último, el cuarto factor del que depende el paso de una droga a la saliva serían las alteraciones hemodinámicas generales, ya sean agudas o crónicas. Si por ejemplo se encuentra reducida la irrigación sanguínea en general, también se verá reducida la irrigación de las glándulas salivares, lo que conduciría a una menor difusión de la droga a la saliva (66).

3.3.3. Metabolismo y excreción

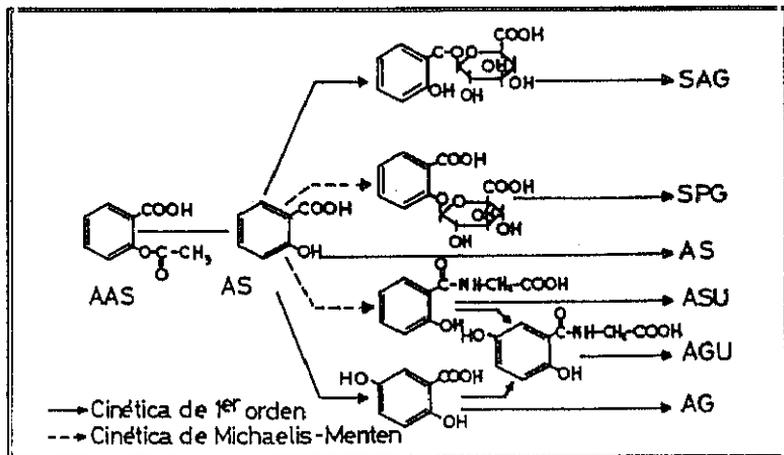
La aspirina se absorbe principalmente como tal, pero una parte de ella es hidrolizada a AS por las esterasas de la mucosa intestinal. Posteriormente el éster absorbido se hidroliza rápidamente a AS en el plasma, en el hígado y en los eritrocitos y más lentamente en el líquido sinovial (34).

El componente acetil de la aspirina, tras la administración oral o intravenosa de ésta, se encuentra en las células de la mucosa gástrica, o se libera como dióxido de carbono, después de atravesar el ciclo de Krebs (67).

El catabolismo del AS es principalmente hepático. El AS se excreta parcialmente sin ningún cambio y el resto se metaboliza a través de cuatro vías (68), según se muestra en el esquema de la figura 3:

- conjugándose con glicina para dar ácido salicílico (ASU)
- conjugándose con ácido glucurónico para dar el éster o acilglucurónido (SAG, salicyl acyl glucuronide)
- conjugándose con ácido glucurónico para dar el éster o glucurónido fenólico (SPG, salicyl phenolic glucuronide)
- oxidándose para convertirse en ácido gentísico (AG)

Figura 4. Metabolismo del AAS tomado de Needs y Brooks (21)



El ASU por oxidación microsomal puede dar lugar a ácido gentisúrico (AGU) y éste también puede obtenerse a través de ácido gentísico (AG), por conjugación con la glicina (69).

La eliminación del AS es urinaria. El AS libre difunde rápidamente a través del glomérulo y es secretado activamente por el túbulo proximal. Los conjugados de AS se excretan también renalmente, siendo dependientes de la filtración glomerular y de la secreción tubular (21).

Parece que existen diferencias en la eliminación de AS según el sexo. Graham et al. (1977) comunicaron que los salicilatos se eliminan más lentamente en la mujer que en el hombre (49). Otras investigaciones sugieren sin embargo, que la eliminación de AS es mayor en el varón, con lo cual a igualdad de dosis, los varones alcanzarían niveles plasmáticos más bajos (70).

La cinética de eliminación del AS es dependiente de la concentración plasmática de esta droga, debido a la limitada capacidad de dos de sus vías principales de biotransformación: la del ASU y la del SPG. Ambas vías siguen una cinética micaeliana, mientras que las otras vías siguen una cinética lineal o de primer orden (71, 72, 73, 74). Las constantes de estos procesos han sido bien estudiadas y determinadas por diversos autores (68, 75, 76) (Tabla IV).

Tabla IV. Constantes de 1^{er} orden y constantes de Michaelis, recogidas en varios estudios sobre cinética de eliminación de salicilatos. Tomado de Needs y Brooks (21).

Referencia	Nº pacientes	AS K_a (h^{-1})	AS → SAG K (h^{-1})	AS → AG K (h^{-1})	AS → ASU		AS → SPG	
					V_{max} (mg/h)	K_m	V_{max} (mg/h)	K_m
Levy y Tsuchiya 1972 (68)	4	0,0075	0,0071	0,0023	60,3	338 (mg)	32,3	629 (mg)
Bochner et al. 1981 (75)	5	---	---	---	43,4±10	14,3±3,4 (mg/L)	---	---
Boreham y Martin 1969 (76)	6	---	0,006	---	---	---	---	---

Abreviaturas: K - constante de 1^{er} orden;
 K_a - constante de eliminación;
 K_m - constante de Michaelis-Menten;
 V_{max} - Velocidad máxima teórica del metabolismo.

Debido a su cinética dosis dependiente la vida media de eliminación variará en función de la dosis. Según Levy la semivida plasmática de eliminación del salicilato es como sigue:

- a) Cuando la dosis es tan pequeña, que todo el proceso de eliminación sigue una cinética de primer orden, la vida media de eliminación es de 2,9 horas aproximadamente.
- b) Cuando la dosis es tan grande que se satura el proceso de formación del ASU, la vida media se incrementa hasta 22 horas (71).

Existen no obstante, considerables variaciones inter e intra-individuales que pueden explicar incluso vidas medias de 41 horas.

La excreción renal de AS es extremadamente sensible al pH urinario (77). El efecto que provoca el pH urinario sobre el aclaramiento del salicilato es más marcado con altas concentraciones, pero también se ha observado con dosis bajas.

3.4. Posología e implicaciones clínicas de las propiedades farmacocinéticas de los salicilatos

Para algunos fármacos existe una clara relación entre su concentración plasmática (C_p) y su efecto terapéutico. Este concepto se ha denominado margen o rango terapéutico (78). En la ACJ el rango terapéutico del salicilato plasmático total es relativamente estrecho (15-30 mg/100ml). Según Doughy et al. (38) parece que la mejor

respuesta antiinflamatoria se obtiene con una concentración plasmática de AS total (C_pAS_t) entre 20 y 30 mg/100 ml (1,1-2,2 mmol/L) y este margen está aceptado mundialmente.

La dosis diaria de AAS recomendada en los libros de texto modernos es de 90-100 mg/kg de peso o incluso mayores (4,79). Cuando se relaciona con la superficie corporal (s.c.) la dosis recomendada es de 3 g/m² s.c./día. Sin embargo con dosis equivalentes, ajustadas por kg de peso, se han observado pronunciadas variaciones interindividuales e incluso intraindividuales en la C_pAS_t (43,80,81,82,83,84).

Conviene pues individualizar la dosis de AAS. Levy (85) propone una pauta de tratamiento razonable y relativamente conservadora. Consiste en iniciar el tratamiento con un dosis diaria de AAS de 60 mg/kg de peso y cinco o siete días más tarde, cuando se ha alcanzado el estado de equilibrio, una a tres horas después de la dosis se extrae una muestra de sangre para la determinación de los niveles plasmáticos de AS_t . Si la concentración es menor de 15 mg/100 ml y la respuesta al tratamiento es inadecuada, la dosis diaria debería incrementarse a 80 mg/kg pero, revisando una semana después en el paciente la respuesta clínica y determinando nuevamente la C_pAS_t .

Los ajustes en la dosificación diaria deberán ser muy cuidadosos ya que pequeños incrementos en la dosis diaria de AAS pueden causar incrementos desproporcionados

en la C_{pAS_t} . Ello se debe a la saturación de sus dos vías principales, la del ASU y la del SPG (68). Paulus et al. (81) demostraron que una elevación en la dosis diaria de salicilato de 65 mg/kg de peso a 100 mg/kg de peso daba lugar a un incremento en la C_{pAS_t} , tres veces mayor.

Conviene tener en cuenta que las elevaciones en la dosis diaria de AAS dan lugar a un aumento en la vida media de eliminación del fármaco y como consecuencia de ello, el tiempo en alcanzar el nuevo estado de equilibrio se verá alargado. Tsuchiya y Levy (86) por simulación computarizada comunicaron que con dosis de 0,5 g cada 8 horas, el tiempo en alcanzar el estado de equilibrio era sólo de 2 días, pero si la dosis se elevaba a 1 g se tardaba entonces 7 días.

En lo referente al intervalo de dosis se ha sugerido, sobre la base de estudios de vigilancia de estas drogas, que la administración de grandes dosis de aspirina con prolongados intervalos de dosis, causa una mayor incidencia de efectos indeseables, que la administración de la misma dosis diaria con intervalos más frecuentes (43,87). La explicación de este hecho se basa en las mayores concentraciones plasmáticas máximas, obtenidas con los intervalos de dosis más prolongados. Sin embargo en un estudio, bien controlado, realizado por Cassell et al. (82), la diferencia entre las concentraciones plasmáticas máximas de AS, administrando la misma dosis diaria de salicilato

cada 8 y cada 12 horas fue tan solo de 3 puntos (27,9 y 30,8 mg/100 ml respectivamente).

Basándose en análisis farmacocinéticos, Levy y Giacomini (88) predijeron concentraciones adecuadas de salicilato en plasma, para terapia antiinflamatoria, administrando la droga cada 8 ó 12 horas, mejor que cada 4-6 horas. Esta predicción fue confirmada posteriormente para adultos (82,89,90) y para niños con ACJ (43,91,92).

Otra cuestión a tener en cuenta, en el tratamiento con salicilatos, es la progresiva disminución de niveles plasmáticos de AS en tratamientos prolongados. Muller et al. (93) comunicaron este hecho en voluntarios sanos y Graham et al. (49) observaron, en un grupo de pacientes con (AR), un aclaramiento corporal de AS significativamente más alto que en los sujetos controles de igual sexo, edad y peso. Day et al. (94) y Günsberg et al. (95), demostraron en pacientes con AR, que el uso prolongado de salicilato induce su propio metabolismo, y que el incremento en la producción del ASU, su principal metabolito, es la causa de ello.

Finalmente hay que considerar las posibles implicaciones farmacológicas de otras drogas con los salicilatos. Por ejemplo el uso asociado de antiácidos, para minimizar las molestias gástricas, puede disminuir los niveles plasmáticos de AS. La alcalinización, que producen los antiácidos en el pH urinario, aumenta la excreción renal

de AS y en consecuencia disminuye la C_p del mismo (77,96,97).

Otro ejemplo de interacción farmacológica es el empleo de corticoides asociados, que también reducen los niveles plasmáticos de AS (80). El suspender la administración de antiácidos y corticoides, sin disminuir la dosis de salicilato, puede dar lugar a elevaciones en la C_p de AS, que resulten tóxicas (40).

En resumen, debido a su unión saturable a proteínas, a la capacidad limitada de sus dos vías principales metabólicas, a su excreción urinaria pH-dependiente y a la inducción de su propio metabolismo, la biotransformación del AS es sumamente compleja, y ello da lugar a que existan grandes variaciones inter e intraindividuales. Si a ello unimos las posibles interacciones farmacológicas con otras drogas, se comprende el por qué se hace impredecible la individualización de la dosis en la terapia con salicilatos.

4. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE SALICILATO

Actualmente se puede afrontar con garantías de éxito, la dosificación "a la medida" del paciente. Esto se ha conseguido gracias a los avances de las técnicas analíticas en los últimos veinte años, que han permitido un estudio sistemático de las concentraciones de ciertos fármacos y de sus metabolitos en los diversos fluidos orgánicos: sangre, orina, saliva, LCR, sudor... (78).

4.1. Concentraciones plasmáticas de salicilatos

El objetivo primordial de cualquier acción terapéutica es conseguir una respuesta deseada. Esta respuesta deberá, invariablemente, poderse someter a algún tipo de medición o valoración. Para algunos fármacos su respuesta es fácilmente medible, tanto por el médico como por el paciente; ejemplos de ello son la tensión arterial, la glucemia o la diuresis. Para otros fármacos como los antiinflamatorios no esteroideos, la respuesta del paciente es más difícil de cuantificar y la monitorización de niveles séricos puede resultar útil para despejar dudas terapéuticas (78).

En el caso de los salicilatos el margen terapéutico es muy reducido (15-30 mg/100 ml), por ésta y por las razones expuestas en el apartado anterior las concentraciones plasmáticas de AS serán la guía para la correspondiente individualización de la dosificación.

Habitualmente, los métodos analíticos de rutina valoran la concentración de salicilato total (salicilato libre más salicilato unido a proteínas). Dado que es la fracción libre del fármaco la que ejerce el efecto biológico y puesto que la unión de salicilato a las proteínas plasmáticas puede verse afectada por diversas enfermedades o por otras drogas, sería de utilidad la cuantificación de los niveles del AS libre. Sin embargo la determinación del fármaco libre requiere un paso previo de dialización o ultrafiltración. Ésta es una técnica muy compleja y muy

costosa, que no está al alcance de todos los laboratorios y no resulta por tanto aconsejable en los análisis de rutina (98,99).

4.1.1. Bases para la interpretación de las concentraciones plasmáticas de salicilato

Un nivel plasmático de salicilato no es sólo una cifra, precisa de multitud de matizaciones y su interpretación debe realizarse siempre en conjunción con un conocimiento exacto del paciente, de la enfermedad que padece, de la severidad de la misma y teniendo en cuenta la respuesta clínica que puede esperarse tras el tratamiento. En este contexto, reviste interés el conocimiento de la presencia de enfermedad hepática o de insuficiencia renal, así como de todos aquellos factores fisiopatológicos, que son capaces de alterar la respuesta del organismo a un determinado fármaco (100).

En términos generales, debemos conocer todos los datos posibles acerca del tratamiento que está recibiendo el paciente: duración del mismo, dosis diaria, cambios efectuados en los últimos días, vía de administración y el tiempo transcurrido desde la última toma hasta la extracción de la muestra, asimismo es imprescindible conocer si está tomando otros medicamentos.

Cuando las concentraciones plasmáticas de un fármaco fluctúan apreciablemente durante un intervalo de dosis, debido a la absorción, distribución y eliminación de

la droga, se hace necesaria la extracción de varias muestras de sangre, durante un mismo intervalo de dosis. Afortunadamente, en el caso de los salicilatos, las concentraciones plasmáticas de esta droga no cambian mucho durante un intervalo de dosis de ocho o más horas, de manera que una sola muestra de sangre, 1-3 horas después de la última dosis es suficiente para la valoración de los niveles plasmáticos (85).

En un estudio realizado por Pachman et al. (91) se comprobaron las escasas fluctuaciones en la C_pAS_t en un intervalo de dosis de 8 horas, en niños con ACJ, en tratamiento con aspirina. La relación entre la concentración máxima y mínima, para niveles mayores de 20 mg/100 ml, fue menor de 1,3.

El mantenimiento de las concentraciones plasmáticas se produce siempre y cuando se haya completado la fase de distribución y el fármaco se encuentre en estado de equilibrio, es decir, que sus concentraciones plasmáticas se repitan en los mismos valores tras cada administración, lo que significa un estado de equilibrio entre la cantidad del fármaco administrada y la cantidad eliminada durante un período de tiempo (101).

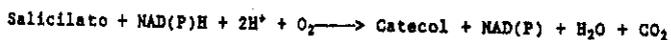
4.1.2. Métodos analíticos

Entre los métodos de cuantificación de salicilatos destacan los siguientes:

- a) Métodos espectrofotométricos. Fueron los que primariamente se utilizaron. Estos métodos emplean la quelación del hierro por el AAS o sus análogos, que producen un compuesto de color púrpura, cuya absorbancia es medida fotométricamente. Son métodos sencillos y baratos pero los reactivos muestran poca especificidad para los salicilatos.

Se han descrito varios métodos, entre todos ellos citaremos el método de Trinder (102) y el de Keller (103). Sobre este último se han descrito modificaciones para mejorar resultados (104). El método de Brodie et al. (105) para evitar interferencias con otras sustancias realiza la extracción del salicilato de la muestra de sangre con cloruro de etileno.

Ultimamente se han descrito métodos que asocian una técnica enzimática con un método espectrofotométrico a fin de mejorar la especificidad. Se conoce, desde hace algunos años, que la enzima salicilato-monooxigenasa, en presencia de NADH o de NADPH y O_2 , convierte el salicilato en catecol (106), de acuerdo con el siguiente esquema:



Se han desarrollado varios métodos en los que se determina la concentración de salicilato en función del NADP consumido, que es cuantificado espectrofotométricamente (107,108). Chubb et al. (109) describen otra técnica en la que el catecol reacciona con 4-aminofenol para dar

un producto de color azul, que es detectado colorimétricamente.

- b) Métodos espectrofluorimétricos. Se basan en el siguiente principio: Cuando una radiación de gran poder energético tropieza con átomos o moléculas dispersas en un medio, los excita y da origen a la emisión de radiaciones por parte de aquéllos, de igual o menor energía que la radiación excitatriz. La concentración de las moléculas en una disolución guarda relación con la intensidad de la luz emitida (fluorescencia) por dichas moléculas (110).

Para determinar la concentración de AS en sangre se han descrito varios métodos espectrofluorimétricos en la literatura (111,112).

- c) Métodos cromatográficos. La cromatografía es una técnica analítica en la cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases, una de las cuales es el lecho estacionario, mientras que la otra se mueve por percolación, a través de este lecho.

Cuando la fase móvil es un gas se habla de cromatografía gaseosa (CG) y si es un líquido de cromatografía líquida (CL). Ambos métodos son específicos y de gran sensibilidad, sin embargo la CL tiene la ventaja de evitar las derivatizaciones de las muestras que son necesarias en la CG. Walter et al. (113) describieron un método basado en CG para la determinación de AAS y AS en plasma.

Basándose en la naturaleza de la fase estacionaria, la CL puede dividirse en cromatografía de adsorción de partición o reparto de intercambio iónico y de exclusión (114).

La cromatografía de reparto, una de las más utilizadas, es el resultado de repetidas absorciones y desorciones, durante el movimiento de los componentes de la muestra, a lo largo de la fase estacionaria, alcanzándose la separación gracias a las diferencias en los coeficientes de reparto de los distintos componentes de la muestra.

La moderna cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, del inglés high-performance liquid chromatography) ha superado a la clásica CL. Con esta nueva técnica se incrementa la eficacia en la separación, al lograr un mayor número de platos teóricos. Se han desarrollado numerosos métodos basados en HPLC, para el control de calidad de diferentes formulaciones de AAS (115,116) y para la determinación de AAS, AS y sus principales metabolitos en sangre (117,118,119,120, 121,122,123).

Para la cuantificación de AS en plasma hay que tener en cuenta ciertas precauciones en la extracción de las muestras, debido a la alta probabilidad de degradación enzimática, del AAS. El perfil de la hidrólisis del AAS respecto al pH, muestra una típica curva sigmoide con una estabilidad máxima a pH:2,5 (21). La degradación enzimática-

ca del AAS plantea un serio problema al analista. Dos son los sistemas enzimáticos principales, responsables de la hidrólisis del AAS en AS. Uno está presente en el eritrocito y otro en el plasma. Sólo si se bloquea la actividad de estas enzimas podrá medirse con seguridad la concentración de AAS y de AS (21).

Para este fin se han utilizado diversos inhibidores enzimáticos: Rowland y Riegelman (124) recomiendan recoger muestras de sangre con fluoruro y extraer el plasma inmediatamente y congelarlo. Pero incluso las muestras congeladas de plasma, conteniendo AAS, tienen una vida media de hidrólisis de 24 días (113), motivo por el cual los análisis deben ser realizados lo más rápidamente posible. Rumble et al. (125) compararon distintos inhibidores enzimáticos y encontraron que el mejor era el fluoruro.

4.2. Concentraciones salivares de salicilato

La extracción de muestras de saliva presenta numerosas ventajas metodológicas sobre el plasma, ya que puede ser obtenida mediante técnicas no invasivas y además resulta más económica y más rápida. Por otro lado permite la obtención de muestras, aisladas o seriadas, de pacientes ambulatorios en su propia casa o en la consulta. Resulta de gran utilidad en la población general, pero más aún en niños y ancianos.

4.2.1. Obtención de la muestra de saliva

La influencia del origen de la muestra de saliva, es decir, si procede de la glándula parótida, submaxilar o es una mezcla de ambas, está todavía sin estudiar para el AS. Sin embargo, estudios realizados para la difenilhidantoína (126) y para la carbamacepina (127) no han encontrado diferencias en este sentido.

Lo ideal es recoger la saliva bajo condiciones anaerobias, para lo cual se han ideado diversos dispositivos con presión negativa para la colección del líquido parotídeo. Sin embargo para la monitorización de rutina esto es impracticable e incluso imposible, y lo que se utiliza habitualmente es un simple tubo en el que el propio sujeto vierte una mezcla de saliva.

4.2.2. Bases para la interpretación de las concentraciones salivares de salicilato

Dos hechos justifican la utilidad de los niveles salivares de un determinado fármaco en el control de un tratamiento:

- a) que los niveles salivares reflejen los niveles plasmáticos
- b) que los niveles salivares sean un exponente más exacto del efecto farmacológico, que los propios niveles plasmáticos de AS total, porque puedan reflejar la concentración del fármaco libre en plasma (128).

Para el seguimiento de un tratamiento mediante niveles salivares, lo ideal son fármacos que mantengan una relación constante entre la concentración salivar y la plasmática, entre distintos individuos y en un mismo individuo a lo largo del tiempo. De esta manera, el nivel plasmático puede obtenerse del nivel salivar, multiplicando éste por una constante.

Cuando se observan variaciones en esta relación saliva/plasma en distintos individuos, pero la relación permanece constante en las muestras de un determinado paciente, basta con una sola determinación de esta relación, para poder utilizar los niveles salivares de un fármaco en lugar de los niveles plasmáticos.

Para otros fármacos, las diferencias en la relación saliva/plasma se han descrito en un mismo individuo en función del tiempo, como sucede con la teofilina (64), pero dado que estas diferencias se producen sobre la base de absorción del fármaco, los niveles salivares pueden ser utilizados para el control del tratamiento, si se selecciona el momento de la extracción, en la fase postabsortiva.

La excreción salivar de fármacos y de otros compuestos es bien conocida. La excreción salivar de ácidos débiles, tales como los salicilatos (129,130), sulfamidas (60,131) y barbitúricos (60,129) se han investigado con sumo detalle. Kilmann y Thayssen (131) en 1955 encontraron que las concentraciones de algunas sulfamidas en la saliva

eran proporcionales a la concentración de la droga libre en el plasma. Estas observaciones sugirieron que la determinación del nivel de un fármaco en saliva podría ser una técnica de utilidad en la investigación de la cinética de absorción y eliminación de los fármacos. Con esta hipótesis Graham y Rowland (132), en 1972 realizaron un estudio en tres sujetos sanos, a los que se les administró aspirina y comprobaron que la concentración de AS, en una mezcla de saliva era proporcional a la C_pAS_c . Dadas las ventajas de esta técnica no invasiva, la determinación de la concentración salivar de AS (C_sAS) se utilizó posteriormente en diversos estudios biofarmacéuticos, sobre diferentes preparaciones de aspirina (46,133,134).

Aarons et al. (135) en 1977 en dos voluntarios sanos demostraron una positiva correlación lineal entre la C_pAS y las concentraciones plasmáticas de AS libre y AS total (C_pAS_1 y C_pAS_2 respectivamente). También en 1977, Pérez-Mateo et al. (136) comunicaron nuevamente, una correlación entre las concentraciones plasmáticas de AS libre y total y las concentraciones de AS salivar. En esta ocasión el estudio se realizó en un grupo de pacientes con Artritis Reumatoide en tratamiento con salicilatos.

El único trabajo realizado en niños con ACJ, en este sentido, después de haber revisado la literatura, es de Levy et al. (137), en 1980. Estos autores confirmaron los datos anteriores, en niños entre 4 y 17 años de edad,

que recibían tratamiento con aspirina cada 8 horas. Sin embargo observaron apreciables variaciones interindividuales en la relación C_pAS/C_pAS_1 que limitaban el uso de la determinación de la C_pAS , como medida indirecta de la C_pAS_2 y de la C_pAS_1 .

4.2.3. Métodos analíticos

Para la determinación de salicilato salivar se han utilizado diversas técnicas: la simple lectura de la fluorescencia directa, que realizan Pérez-Mateo et al. (136) en su estudio, el método de Brodie (105) empleado en el trabajo de Levy et al. (137) o el método fluorimétrico de Graham y Rowland (132), que utilizan la mayoría de los estudios farmacocinéticos.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

La necesidad de determinar la concentración plasmática de salicilatos en niños con ACJ, en tratamiento con AAS, con las molestias que suponía a estos pacientes la extracción de sangre, nos llevó a valorar la posibilidad de cuantificar la concentración de salicilatos en saliva, como medida indirecta de la C_pAS_t . Esta técnica no invasiva, indolora, cómoda y económica solamente se había utilizado en algunos estudios experimentales.

Se propusieron los siguientes objetivos:

1. Desarrollar un método analítico para la determinación de la C_pAS y de la C_pAS_t , lo suficientemente sensible y específico, que permitiera estimar las bajas concentraciones de AS en saliva. Para ello se eligió la Cromatografía Líquida de Alta Resolución técnica hasta ahora no utilizada en la determinación de la C_pAS .
2. Utilizando la metodología analítica desarrollada, determinar la C_pAS y la C_pAS_t en un grupo de niños diagnosticados de ACJ, tratados con AAS cada 12 horas.
3. Valorar la eficacia de un régimen de tratamiento con aspirina cada 12 horas en este grupo de pacientes.
4. Estudiar la relación C_pAS/C_pAS_t en estos pacientes para comprobar si el valor de esta relación se mantiene constante entre diferentes individuos e incluso en un mismo paciente a lo largo del tiempo.

5. Por último, determinar el grado de dependencia entre la C_{AS} y la C_{pAS_t} , entre la C_{AS} y el pH en saliva, entre la relación C_{AS}/C_{pAS_t} y el pH salivar, entre la C_{pAS_t} y el pH en orina, entre la C_{pAS_t} y la relación C_{AS}/C_{pAS_t} y entre la relación C_{AS}/C_{pAS_t} y el pH en orina.

III. MATERIAL Y METODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

I. POBLACION

Se analizaron 10 niños con ACJ, diagnosticados en el Departamento de Pediatría del Hospital Clínico de San Carlos, con edades comprendidas entre 6 y 17 años (\bar{x} = 11,7 años). Cuatro eran varones y seis hembras. Todos cumplían los criterios que definen la ACJ y se encontraban en fase de actividad. De los 10 niños, 2 eran formas poliarticulares, uno de ellos Factor Reumatoide positivo, 6 eran pauciarticulares y 2 eran formas sistémicas (Tabla V).

Tabla V. Perfil clínico de los pacientes

PACIENTE	EDAD (años)	SEXO	FORMA CLÍNICA	TIEMPO DE EVOLUCIÓN
E.A.P.	12	H	Pauciarticular	10 meses
A.C.R.	17	V	Pauciarticular	6 años
G.C.A.	16	V	Poliarticular. FR (-)	11 años
A.R.P.	10	H	Pauciarticular	3 años
S.M.V.	6	H	Pauciarticular	3 años
S.S.A.	12	V	Pauciarticular	1 año
A.M.V.	16	H	Poliarticular. FR (+)	10 años
G.M.L.	12	H	Pauciarticular	1 año
J.O.A.	7	V	Sistémica	4 años
E.S.G.	9	H	Sistémica	4 meses

Antes del estudio se les explicó a los padres y a los niños las pruebas que se les iban a realizar, obteniendo de todos la conformidad para su realización.

A todos los pacientes se les administró AAS durante 9 días, en forma de tabletas convencionales de 500 mg. y en algunos casos se añadió AAS en polvo, suministrado por Química Farmacéutica Bayer, S.A. (viales de 100 y 250 mg. para ajustar la dosificación). La media de la dosis diaria fue de 79,57 mg/kg/día, repartida en dos tomas, vía oral, cada 12 horas. Se les insistió en la correcta y puntal administración del fármaco y en los posibles efectos tóxicos, por si advertían alguno de ellos para que lo comunicaran telefónicamente o acudieran a la consulta. No se les administró concomitantemente ningún otro fármaco, salvo en el caso de A.C.R. que estaba tomando Terfenadina por un proceso alérgico y J.O.A. que tomaba un gel de hidróxido de aluminio por antecedente de molestias gástricas.

A cada paciente se le practicó una exploración general, haciendo hincapié en el aparato locomotor, antes de iniciar el tratamiento y otra el día que ingresaba para hacer la extracción de las muestras de sangre y de saliva.

2. TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE Y DE SALIVA

Los 10 pacientes ingresaron el día décimo de tratamiento, durante 12 horas, en el Departamento de Pediatría del Hospital Clínico de San Carlos de Madrid. Acudieron en ayunas y sin lavarse los dientes, para evitar posibles interferencias con otras sustancias en las muestras de saliva.

De todos estos pacientes se obtuvieron muestras de sangre y de saliva a tiempo cero (inmediatamente antes de la dosis matutina de AAS) y a las 2, 4, 8 y 12 horas siguientes. Esta última extracción también se realizó antes de la administración oral de AAS.

Para la obtención de la sangre se procedió a canalizar una vena periférica del brazo o de la mano. En la primera extracción se obtuvieron 6 ml. de sangre para la determinación de hemoglobina, hematíes, hematocrito, volumen corpuscular medio, leucocitos, fórmula leucocitaria, plaquetas, LDH, GPT, fosfatasa alcalina, creatinina y proteínas totales. Posteriormente con otra jeringa, cargada con 0,1 ml. de una disolución saturada de fluoruro sódico, para inhibir la hidrólisis del AAS, (124) se obtuvieron 3 ml. más de sangre para la determinación de la concentración de salicilato total en plasma. Este volumen de sangre fue vertido en un tubo de vidrio, que contenía 75 USPU de heparina, lítica, (VT-0505 HL de Terumo Co. Bélgica), y se centrifugó a 1.500 x g durante 10 minutos a 2°C. Se separó posteriormente el plasma y se congeló en un tubo de poliestireno a -20°C hasta su posterior análisis.

Para mantener la vía periférica permeable y evitar posteriores venopunciones se colocó un goteo glucosalino (2/3 - 1/3) a 7 gotas por minuto. En las extracciones de sangre se tuvo la precaución de prescindir de los dos primeros mililitros de sangre que fluían a través de la cánula, antes de recoger los 3 ml. de sangre.

Las muestras de saliva se obtuvieron simultáneamente con las muestras de sangre. Los pacientes vertieron 3 ml. de saliva, directamente en un tubo de vidrio graduado. En aquellos en los que el flujo salivar era escaso se estimuló la salivación haciéndoles masticar un trozo de Parafilm enrollado.

3. ESTIMACION DEL pH SALIVAR Y URINARIO

Antes de congelar la saliva en el mismo tubo que se recogió, se determinó el pH de la mezcla salivar con varillas indicadoras de pH, suministradas por Merck. Posteriormente las muestras salivares fueron congeladas a -20°C hasta su procesamiento. A cada paciente se le recogió una micción después de cada extracción de sangre y de saliva para estimar el pH urinario. El método que se utilizó para esta determinación fue el mismo que para la saliva.

4. REACTIVOS

El AS y la difenilamina (DFA) se obtuvieron de Sigma Chem. Co. (St. Louis, MO, EEUU). el fluoruro sódico (NaF), el cloruro sódico (NaCl), el ácido acético, el ácido ortofosfórico, el ácido clorhídrico (HCl) y el éter dietílico los suministró Merck (Ramón Cornet, España) y el cloroformo, acetonitrilo, hexano, acetato de etilo, agua y metanol (grado HPLC) se obtuvieron de Carlo Erba (Farmitalia-Carlo Erba, Milán, Italia).

5. EXTRACCION DE SALICILATO

Para la extracción de salicilato, a partir de muestras acuosas, se probaron diferentes disolventes orgánicos, procediendo de la siguiente manera:

Se preparó una disolución de 0,4 mg. ml⁻¹ de AS en metanol (grado HPLC): agua (1:9, v/v), agitando durante 30 segundos (s). El AS se extrajo empleando tres volúmenes x tres veces, de las siguientes mezclas orgánicas:

- a) Cloroformo: acetonitrilo (60:40, v/v).
- b) Éter dietílico: hexano (80:20, v/v).
- c) Acetonitrilo: metanol: ácido ortofosfórico (91,5:8:0,5, v/v).
- d) Acetato de etilo (100%).
- e) Éter dietílico (100%).

La fase orgánica se evaporó a sequedad bajo una corriente de aire en obscuridad. Siempre se tuvo la precaución de retirar los tubos inmediatamente después de secarse y de mantener una temperatura de evaporación menor de 20°C. El residuo seco se suspendió en 200 µl. de metanol (grado HPLC), conteniendo 0,3 mg. ml⁻¹ de DFA, como patrón externo. En la columna cromatográfica se inyectaron 10 µl. de esta disolución. Los resultados obtenidos se expresan como cuentas de área de AS en relación a las de DFA, frente a la masa en µg., de AS inyectada en la columna.

El éter dietílico 100% resultó ser el agente extractor más eficaz, ya que una vez analizadas la fase or-

gánica y la acuosa, esta última contenía menos del 0,3% de la concentración inicial de AS. Desde este momento, el éter dietílico 100% se empleó en las sucesivas extracciones de AS a partir de muestras acuosas.

5.1. Extracción de salicilato total a partir de muestras de plasma

De cada muestra de plasma, conteniendo NaF, se pipetearon 0,5 ml. en un tubo de vidrio de centrifuga, de 10 ml. de volumen, conteniendo 15 mg. de cloruro sódico (NaCl). Se agitó durante 30 s. y se añadieron posteriormente 0,5 ml. de agua destilada. Se volvió a agitar durante 60 s. y a continuación las muestras fueron desproteinizadas con 0,5 ml. de ácido clorhídrico (HCl) 3N, agitando nuevamente 60s. La disolución se centrifugó finalmente a $1260 \times g$ a $2^{\circ} C$ durante 10 min. Al sobrenadante que se obtuvo se le añadió éter dietílico (3 volúmenes x tres veces), agitando durante 10 min. y centrifugando después a $1260 \times g$ a $2^{\circ} C$ durante otros 10 min. en cada extracción.

La fase orgánica, conteniendo el AS, se evaporó a sequedad, bajo una corriente de aire, en obscuridad, con la precaución de retirar el tubo inmediatamente después de la evaporación completa, y procurando una temperatura de evaporación menor de $20^{\circ} C$.

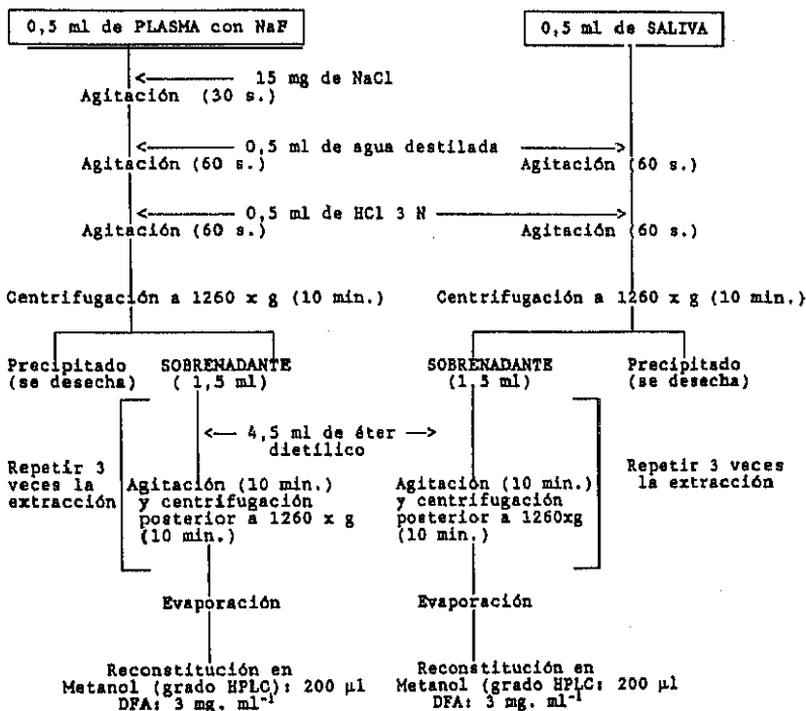
El residuo seco se resuspendió en 200 μ l. de metanol (grado HPLC), conteniendo 0,3 mg. ml^{-1} de difenilamina (patrón externo). De esta disolución se inyectaron 10 μ l.

en la columna cromatográfica 3 veces consecutivas. En la figura 5 se muestra un esquema de todo el proceso. El análisis cromatográfico, para cada muestra de plasma, se realizó por duplicado. El valor de la C_{AS} se calculó a partir de la media de los 6 valores obtenidos. (2 análisis para cada muestra y 3 inyecciones en cada análisis).

5.2. Extracción de salicilato a partir de muestras de saliva

A 0,5 ml. de saliva se le añadieron 0,5 ml. de agua destilada y se agitó durante 30 s. La muestra fue desproteinizada añadiéndole 0,5 ml de HCl 3N y agitando durante 60s. Se centrifugó como las muestras del plasma, a $1260 \times g$ durante 10 mín. y con el sobrenadante se procedió de igual manera que con el plasma, sin embargo para la saliva se añadió el patrón externo a una concentración de $0,1 \text{ mg. ml}^{-1}$. (Fig. 5). También se realizó el análisis cromatográfico de cada muestra de saliva por duplicado. El valor de la C_{AS} se calculó a partir de la media de los 6 valores obtenidos.

Fig. 5. Esquema con las diferentes etapas seguidas por las muestras de plasma y de saliva, antes de la inyección del residuo seco reconstituido, en la columna cromatográfica.



6. DETERMINACION DE SALICILATO EN PLASMA Y SALIVA MEDIANTE HPLC

Previo al análisis cromatográfico, se practicó un barrido en la zona del ultravioleta entre 195 y 350 nm, en un espectrofotómetro de doble haz modelo DMS-90 (Varian), de una disolución de AS preparada de igual forma que los patrones. La máxima absorbancia se observó a 237 nm. de longitud de onda, con lo cual, a partir de este momento fue tomada como la longitud de onda de análisis.

La fase orgánica, donde se recupera el salicilato fue evaporada a sequedad, según se describió en el apartado anterior. El residuo seco se resuspendió en metanol (grado HPLC) conteniendo difenilamina como patrón externo y se inyectó en la columna cromatográfica.

Las condiciones del análisis fueron las siguientes:

- Equipo: Cromatógrafo Varian 5060, equipado con un inyector, Rheodyne (RH 7125) y un Integrador - Computador vista CDS-401 de Varian.
- Columna: Fase reversa, Spherisorb ODS-2 de μm . de partícula (200 mm. x 4,6 mm. d.i.) de Sugelabor.
- Fase móvil: Metanol: agua:Acido acético. (400:98:2, v/v).
- Flujo: 1 ml. min^{-1} .
- Volumen de inyección: 10 μl .
- Temperatura: 25°C.
- Presión: 140 atm.

- Longitud de onda: 237 nm. Suministrada por un detector de longitud de onda variable UV-VIS (Varichrom TM VUV/10 de Varian).
- UAFE: 0,002.
- Patrón externo: Difenilamina en metanol:
 - 0,3 mg. ml⁻¹ para muestras procedentes de plasma.
 - 0,1 mg. ml⁻¹ para muestras procedentes de saliva.
- Velocidad del papel: 0,3 cm. min⁻¹.

7. PREPARACION DE LAS DISOLUCIONES PATRON

Los patrones de salicilato se prepararon inmediatamente antes del ensayo, para evitar su posible degradación. Con objeto de obtener resultados altamente comparables entre las concentraciones de AS, procedente de las disoluciones patrón y las concentraciones de AS, procedente de las muestras de plasma y saliva, el AS de las disoluciones patrón se extrajo también con éter dietílico. Se prepararon concentraciones crecientes de AS, entre 50 y 508 µg. ml⁻¹ en el caso de la recta patrón utilizada en plasma y entre 1 y 38 µg. ml⁻¹ par la recta patrón utilizada en saliva. Todas las muestras se disolvieron en plasma y saliva libres de droga, agitando después, durante 10 mín. A continuación el AS fue extraído empleando 3 volúmenes x 3 veces de éter dietílico. La fase orgánica se evaporó a sequedad y el residuo seco se resuspendió en 200

µl. de metanol (grado HPLC), de los cuales se inyectaron 10 µl. en la columna cromatográfica.

Los resultados de la calibración directa se expresan en cuentas de área de AS (respuesta del detector a 237 nm.) frente a la masa inyectada de AS patrón (en µg.), inyectada en la columna.

Para la calibración indirecta se procedió de igual manera, salvo que el residuo seco procedente de la fase orgánica etílica, se resuspendió en 200 µl. de metanol (grado HPLC), conteniendo 0,1 ó 0,3 mg. ml⁻¹ de difenilamina, como patrón externo. Los resultados se expresan como la razón de cuentas de área entre AS y difenilamina (respuesta del detector a 237 nm.) frente a la masa (en µg.) de AS patrón inyectada en la columna.

El ajuste por mínimos cuadrados de ambas rectas, directa e inversa, permite extrapolar la concentración de AS extraída de plasma o de saliva, en función de las cuentas de área obtenidas.

8. PARAMETROS ESTUDIADOS

8.1. Área bajo la curva (ABC)

Tanto para plasma como para saliva se calculó el ABC "concentración frente a tiempo", por el método trapezoidal, con la ayuda del programa Pharmacologic Calculation System, Versión 4.0, Springer Verlag, Nueva York 1986.

8.2. Promedio de las C_pAS y de las C_sAS en el intervalo de 12 horas (C_pAS y C_sAS, respectivamente)

Ambos promedios se calcularon dividiendo el ABC correspondiente, por 12 horas (tiempo del intervalo de dosis).

8.3. Relación entre las concentraciones máxima y mínima

(Rel máx:mín) Esta relación se obtuvo de dividir la C_pAS_t más elevada, en el intervalo de dosis, por el C_pAS_t.

9. METODO ESTADISTICO

Antes de proceder al análisis estadístico se ha comprobado que las muestras siguen una distribución normal, mediante el cálculo del coeficiente de asimetría y apuntalamiento, aplicando la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Los datos de los resultados globales se expresan como media y error standar de la media ($\bar{X} \pm ES$). El ES se ha calculado dividiendo la desviación standar (SD) por la raíz cuadrada del tamaño de la muestra (N) y se ha utilizado como una estimación de la dispersión. También, en algunos, casos se ha utilizado el coeficiente de variación

$$CV = \frac{DS}{\bar{X}} \times 100$$

Para verificar la relación entre dos variables aleatorias y su posible dependencia (138) se han realizado análisis de regresión.

Los datos se han considerado estadísticamente significativos cuando se ha obtenido una probabilidad menor de 0,01 ($p < 0,01$).

Los datos estadísticos se han realizado en un ordenador IBM-PS2/50 con la ayuda del programa Microstat Ecosoft Inn 1984.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

1. RESULTADOS DEL METODO DE ANALISIS EMPLEADO

1.1. Tiempos de retención

Los tiempos de retención para el AS y para la difenilamina fueron 2,8 y 4,3 minutos respectivamente. En la figura 6 se muestran 2 cromatogramas: Uno corresponde a una disolución patrón en plasma (A) y el otro a una disolución patrón en saliva (B).

En la figura 7 se muestran los cromatogramas obtenidos del análisis de las 5 muestras de plasma, recogidos en el paciente nº 9 (J.O.A.) y en la figura 8 se muestran, de manera similar, los cromatogramas de las 5 muestras de saliva de ese mismo paciente.

1.2. Límite de detección

Bajo las condiciones descritas en el método, usando 0,5 ml de plasma y 0,5 ml de saliva e inyectando 10 µl, el límite de detección fue de 5 ng de masa inyectada de AS en la columna. El límite de detección se tomó como la cantidad de componente dado, para una relación señal/ruido de 2:1.

1.3. Linealidad

En la figura 9 se muestran las rectas de calibración para plasma. En la figura 9A se representa la calibración directa, enfrentado la masa de AS inyectada, en

μg , y el número de cuentas de área de AS, definida por la recta $y = 0'226 + 0'179 x$ ($r = 0'91$).

En la figura 9.B se puede observar la calibración indirecta donde se representa la masa de AS inyectada, en μg , frente a la relación entre el número de cuentas de AS y el número de cuentas de difenilamina. El coeficiente de correlación fue mayor en este caso ($r = 0,96$). La recta de regresión es $y = -0'124 + 0'151 x$.

En la figura 10 se muestran, de manera similar, las rectas de calibración para las muestras de saliva. En la figura 10.A, la calibración directa, representando la masa inyectada de AS frente al número de cuentas de área de AS, mostró un elevado coeficiente de correlación ($r = 0,96$). La recta correspondiente es $y = 0,175 + 3,631 x$. En la figura 10.B, la correlación entre la masa inyectada de AS y la relación entre el número de cuentas del AS y el número de cuentas de la difenilamina (calibración indirecta) se aproxima a la unidad ($r = 0,99$). La recta obtenida es $y = 0,073 + 1,303 x$.

Figura 6

A- Cromatograma representativo del análisis de una disolución patrón en plasma, con una concentración de AS de 116 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 300 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de DFA.

B- Cromatograma representativo del análisis de una disolución patrón en saliva, con una concentración de AS de 13 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ de DFA.

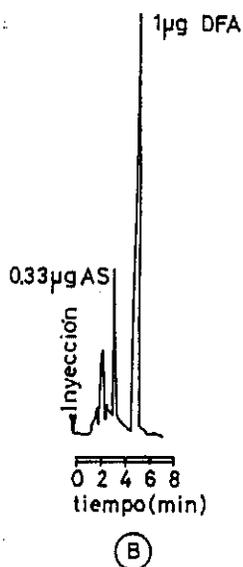
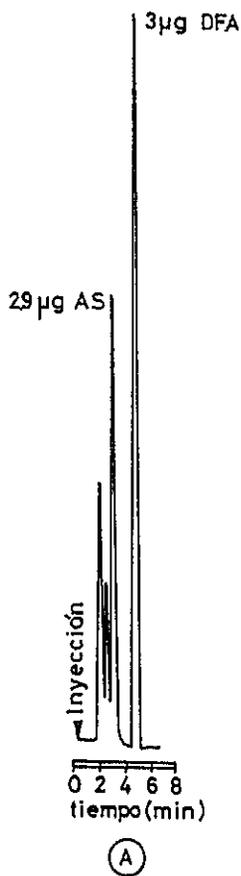


Figura 7

Cromatogramas representativos del análisis de las 5 muestras de plasma, obtenidas del paciente J.O.A., a las 0, 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de AAS.

PLASMA

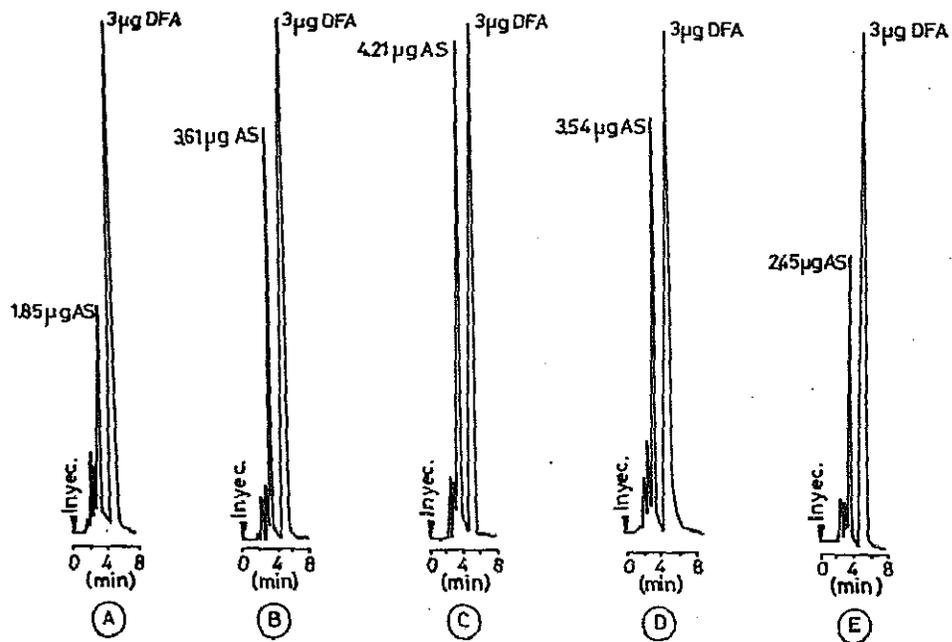


Figura 8

Cromatogramas representativos del análisis de las 5 muestras de saliva, obtenidas del paciente J.O.A., a los 0, 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de AAS.

SALIVA

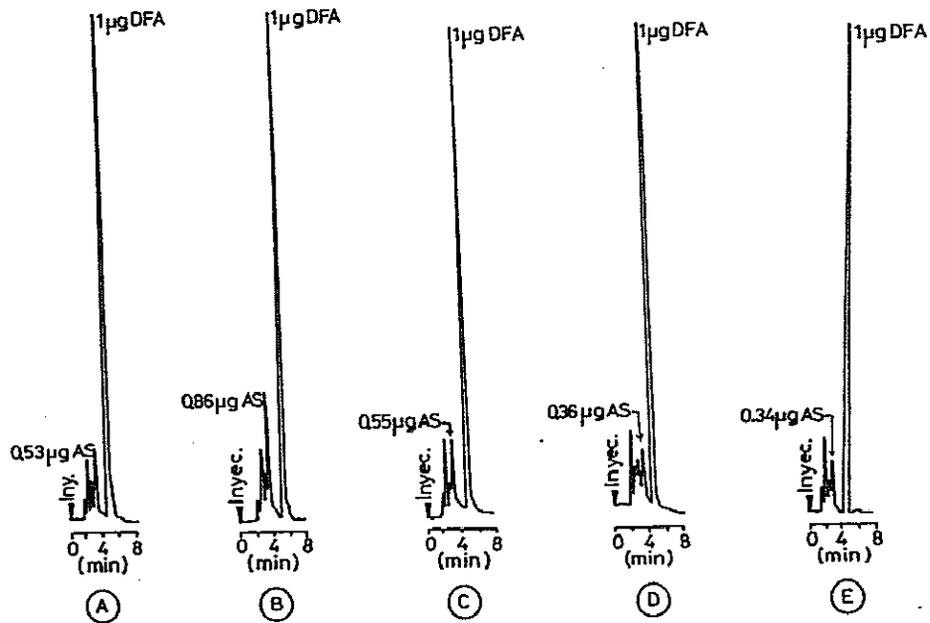


Figura 9

Rectas de calibración de la concentración plasmática de salicilato total. En A: Calibración directa; $y = -0,226 + 0,179 x$, $r = 0,91$. En B: Calibración indirecta, referida a la DFA; $y = -0,124 + 0,151 x$, $r = 0,96$.

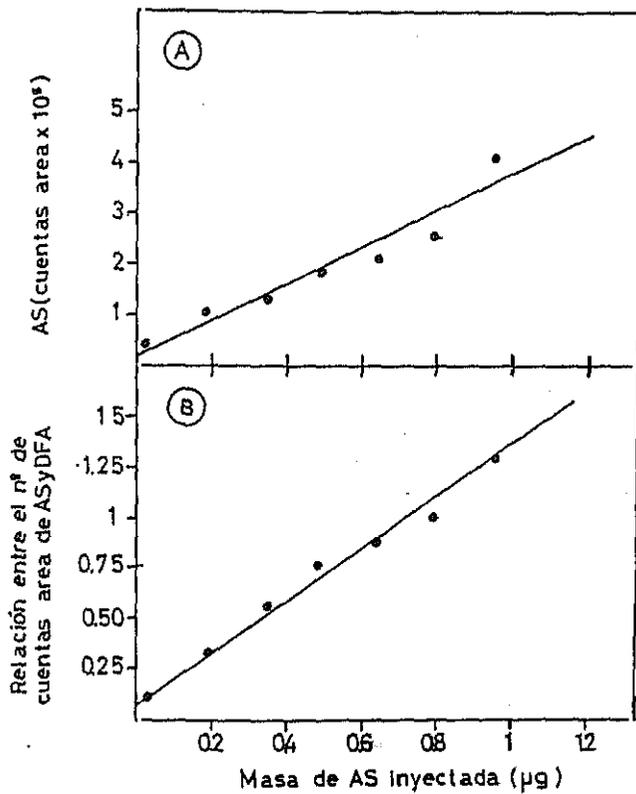
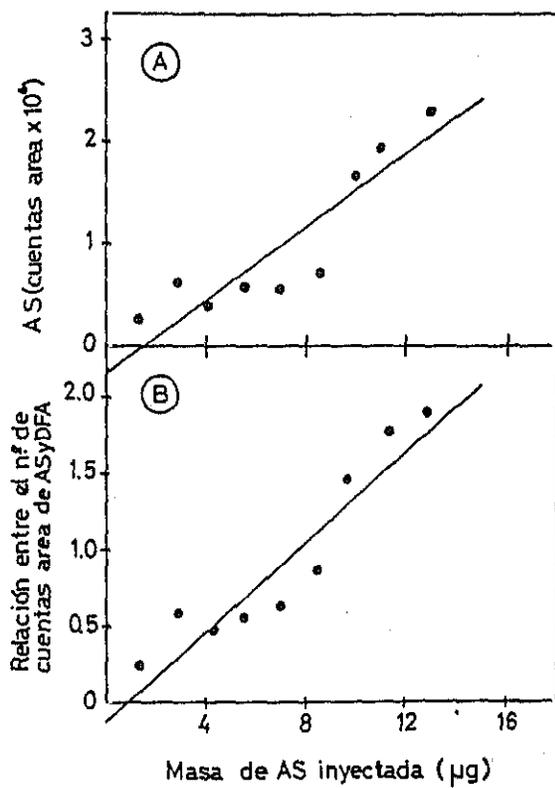


Figura 10

Rectas de calibración de la concentración salivar de salicilato. En A: Calibración directa; $y = 0,175 + 3,631 x$, $r = 0,96$. En B: Calibración indirecta referida a la DFA; $y = 0,073 + 1,3033 x$, $r = 0,99$.



2. RESULTADOS DEL ESTUDIO EXPERIMENTAL

Todos los pacientes, al ser ingresados, confirmaron el cumplimiento exacto del tratamiento, salvo la paciente A.M.V., que olvidó la toma vespertina del AAS, el día 4º del tratamiento.

Los 10 niños estudiados, con ACJ, se encontraban en fase de actividad, antes del tratamiento, con signos inflamatorios articulares evidentes. En la exploración clínica practicada el día del ingreso, tras 9 días de terapia con AAS, se observó, en 4 pacientes, una desaparición completa de los signos flogísticos articulares, con movilidad articular normal (pacientes S.S.A., A.M.V., C.M.L. y J.O.A.), en 2 pacientes habían desaparecido también los signos inflamatorios en las articulaciones afectas, pero la movilidad activa resultaba dolorosa y se encontraba limitada (pacientes A.R.P. y R.G.S.) y en 4 pacientes persistían todavía los signos inflamatorios, aunque con menor intensidad, (pacientes E.A.P, A.C.R., G.C.A., S.M.V.).

Solamente en un caso se registraron efectos adversos, en forma de náuseas. En los controles hematológicos realizados (sistemático de sangre y bioquímica hemática), no se presentaron alteraciones atribuibles al tratamiento. (tabla VI). En algunos pacientes, se observaron cifras de hemoglobina bajas, que coincidieron con las encontradas previamente al tratamiento, hallazgo que es frecuente, en este tipo de pacientes.

De los 10 pacientes se obtuvo un total de 50 pares de muestras de sangre y de saliva, 5 muestras de sangre y 5 de saliva de cada niño.

Tabla VI. Determinaciones practicadas en sangre, en los 10 pacientes, tras 9 días de tratamiento con AMS.

Pacientes	E.A.P.	A.C.R.	G.C.A.	A.R.P.	S.H.V.	S.S.A.	A.H.V.	C.M.L.	J.O.A.	R.P.S
Hemafjes/ mm ³	4.640.000	4.350.000	4.510.000	4.160.000	4.980.000	4.150.000	4.510.000	4.400.000	4.560.000	4.060.000
Hemoglobina (gr/dl)	11,8	12	11,9	11,5	13,1	11,4	13,7	13,3	12,3	10,6
Hematocrito (%)	35,6	37	36	34,7	40,4	34,5	41,6	40	34,5	32,1
Leucocitos/ mm ³	8.370	9.100	6.290	7.690	7.500	6.500	8.250	7.230	3.610	7.300
Fórmula leucocitaria	60N, 31L, 6M, 3E	59N, 37L 3M, 1E	63N, 26L 6M, 4E, 1B	2C, 52N, 42L, 4M	59N, 38L 3M	1C, 57N 36L, 5M, 1E	57N, 40L, 2E, 1B	50N, 40L, 7M, 2E, 1B	53N, 35L 2B, 9M, 1E	57N, 29L, 3B, 1E
Plaquetas/ mm ³	302.000	297.000	223.000	457.000	316.000	287.000	218.000	390.000	216.000	508.000
GPT (U/L)	23	19	18	12	23	21	27	12	19	25
LDH (U/L)	149	128	135	118	271	189	133	138	140	256
F. Alcalina (U/L)	13,2	15,1	16,2	14,2	15,1	14,5	7	20,3	192	17,1
Creatinina (mg/dl)	0,71	0,57	0,66	0,43	0,51	0,69	0,55	0,51	0,66	0,60
Proteínas totales (gr/L)	6,8	7,3	7,1	7,5	6,5	7,3	6,1	7,3	7,1	7,8

2.1 Resultados individuales

Paciente nº 1. (E.A.P.)

En la tabla VII se detallan las variaciones de las concentraciones plasmáticas y salivares de salicilato (C_{pAS_t} y C_{sAS_t}), en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. En la figura 11. A, se representa la C_{pAS_t} frente al tiempo. Esta osciló entre 84 y 32,16 mg/100 ml, alcanzándose el máximo a las 2 horas de la toma del AAS. En la figura 11.B se representa la C_{sAS_t} frente al tiempo. También se registró el máximo valor a las 2 horas (C_{sAS} máxima: 1,61 mg/100ml). Posteriormente la C_{pAS} fue disminuyendo progresivamente. En la figura 11.C se ponen de manifiesto las diferencias encontradas en la relación C_{sAS}/C_{pAS_t} en los 5 pares de muestras de plasma y de saliva de este paciente. El máximo de este cociente (0,071) se alcanzó a las 4 horas.

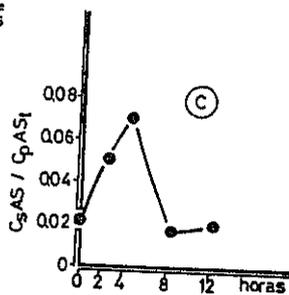
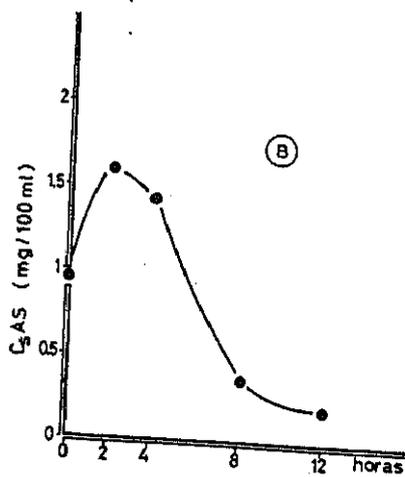
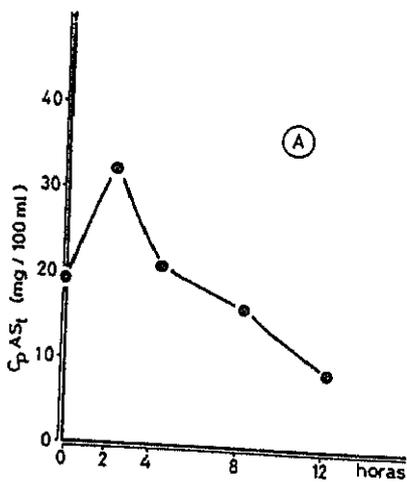
En la tabla VII se detallan también los valores del pH salivar (rango: 7-75) y del pH urinario (rango: 5-7). Se muestran también los promedios de las concentraciones plasmáticas y salivares de salicilato, en el intervalo de dosis ($\overline{C_{pAS}}$ y $\overline{C_{sAS}}$, respectivamente). En E.A.P. el $\overline{C_{pAS}}$ se mantuvo dentro del margen plasmático considerado terapéutico ($\overline{C_{pAS}} = 18,94$ mg/100ml). El $\overline{C_{sAS}}$ fue de 0,82 mg/100ml.

Tabla VII. Paciente n°1 (E.A.P.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	19,3	0,445	0,022	5	7,5		
2h	32,16	1,61	0,050	5,5	7		
4h	20,71	1,45	0,071	7	7,5	18,94	0,82
8h	16,18	0,37	0,012	6,5	7,5		
12h	8,4	0,18	0,021	6,5	7,5		

Figura 11

Paciente nº 1 (E.A.P). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de AS (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 2 (A.C.R)

En la tabla VIII se muestran los valores de las concentraciones plasmáticas de AS total y de las concentraciones salivares de salicilato en los 5 pares de muestras. En la figura 12.A se observa que la C_pAS_t más elevada se obtuvo a las 2 horas (C_pAS_t máxima: 21,90 mg/100ml). La menor C_pAS_t fue de 10,2 mg/100ml. En la figura 12.B se representa la C_pAS frente al tiempo. El rango de la C_pAS osciló entre 0,31 y 1,23 mg/100ml, con el máximo valor a las 4 horas de la toma de AAS. En la figura 12.C se representa la relación C_pAS/C_pAS_t frente al tiempo. Se observa que este cociente varió a lo largo del tiempo, alcanzándose el valor máximo (0,060) las 8 horas.

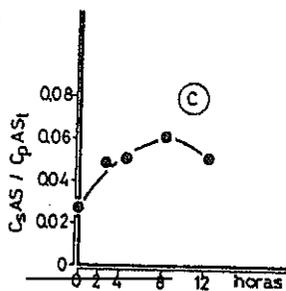
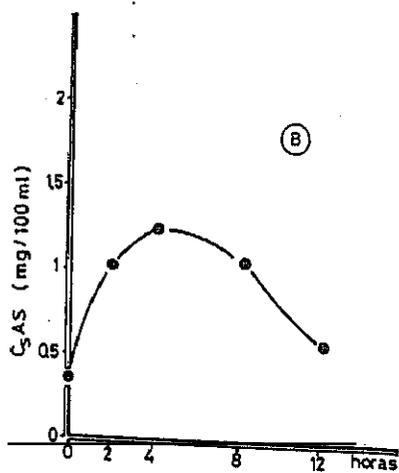
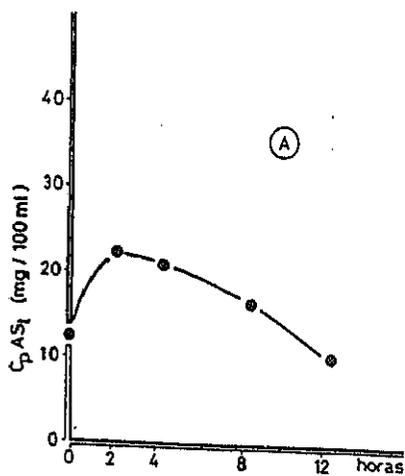
En la tabla VIII se muestra que el valor del pH salivar, en A.C.R., se mantuvo constante, mientras que el pH urinario varió entre 5 y 6. El $\overline{C_pAS_t}$ se mantuvo dentro del margen terapéutico ($\overline{C_pAS_t} = 17,22$ mg/100ml), y el $\overline{C_pAS}$ fue de 0,95 mg/100ml (tabla VIII).

Tabla VIII. Paciente nº2 (A.C.R.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	12	0,315	0,026	5	7		
2h	21,9	1	0,047	6	7		
4h	20,9	1,23	0,050	5	7	17,22	0,95
8h	16,93	1,06	0,060	5	7		
12h	10,2	0,56	0,051	5,5	7		

Figura 12

Paciente nº 2 (A.C.R.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 3 (G.C.A.)

En la tabla IX correspondiente a este paciente, se muestran las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_{pAS_t}). El rango de esta concentración osciló entre 13,15 y 29,8 mg/100ml. En la figura 13.A se representa la C_{pAS_t} frente al tiempo y se observa que la C_{pAS_t} máxima se alcanzó, como en la mayoría de los pacientes, a las 2 horas, descendiendo después de forma paulatina. En la figura 13.B, en la que se representa la C_{AS} frente al tiempo, la evolución de la C_{AS} es similar a la C_{pAS_t} , alcanzándose también la máxima concentración a las 2 horas de la administración de aspirina. En la figura 13.C se muestran las variaciones de la relación C_{AS}/C_{pAS_t} en el intervalo de 0 a 12 horas. El rango de esta relación fue de 0,037 a 0,052.

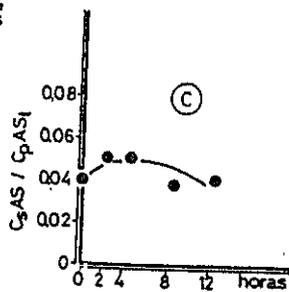
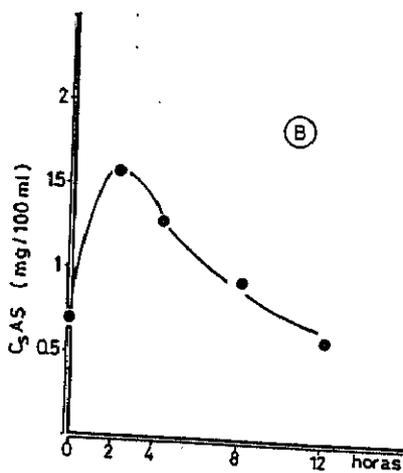
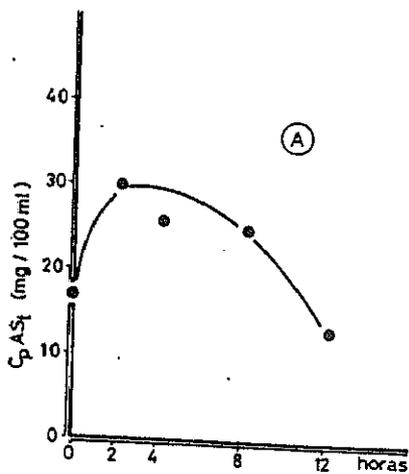
En la tabla IX se observa que el pH en orina comenzó a variar a partir de las 8 horas de la toma del AAS. Lo mismo ocurrió con el pH salivar que hasta entonces se había mantenido constante. En esta misma tabla se detallan el $\overline{C_{pAS_t}}$ y el $\overline{C_{AS}}$ (23,18 y 1,08 mg/100ml, respectivamente).

Tabla IX. Paciente nº 3. (G.C.A.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_{pAS_t}), de las concentraciones salivares de salicilato (C_{sAS}), de la relación entre ambas (C_{pAS}/C_{sAS}), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_{pAS_t}}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_{sAS}}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_{sAS} (mg/100ml)	C_{pAS} (mg/100ml)	C_{pAS}/C_{pAS_t}	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_{pAS_t}}$ (mg/100ml)	$\overline{C_{sAS}}$ (mg/100ml)
0h	16,55	0,69	0,041	5	7		
2h	29,80	1,59	0,052	5	7		
4h	25,30	1,28	0,050	5	7	23,18	1,06
8h	24,96	1,94	0,037	6	7,5		
12h	13,15	0,62	0,040	5,5	6,5		

Figura 13

Paciente nº 3 (G.C.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 4 (A.R.P.)

En la Tabla X se muestran las variaciones de la C_pAS_t , de la C_pAS y de la relación C_pAS/C_pAS_t . En la representación gráfica de la C_pAS_t frente al tiempo (figura 14.A) se observa que el máximo de esta concentración se obtuvo a las 2 horas, con un valor de 17,49 mg/100ml. La C_pAS osciló entre 0,09 y 0,58 mg/100ml. En la figura 14.B se representa la C_pAS frente al tiempo. Se observa que esta concentración fue elevándose hasta las 8 horas y luego descendió de forma lenta. En la figura 14.C se observa que el máximo valor del cociente C_pAS/C_pAS_t se registró a las 8 horas de la toma de aspirina. (C_pAS/C_pAS_t máxima = 0,039).

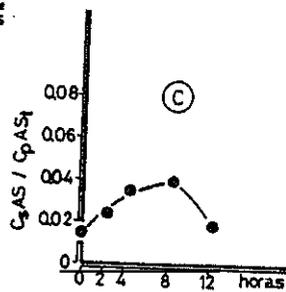
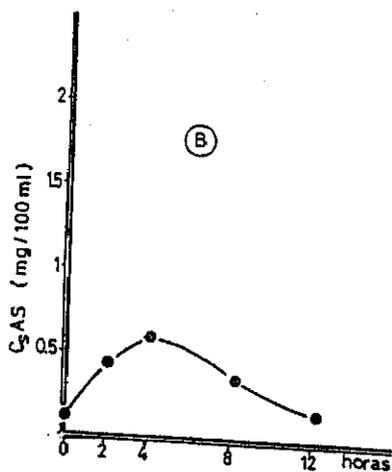
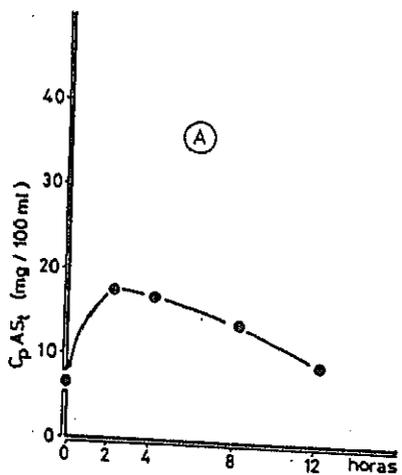
La tabla X informa de los valores del pH urinario (rango: 5-6), del pH salivar (rango 6,5-8), del C_pAS_t y del C_pAS . El C_pAS_t en el intervalo de 12 horas, fue algo inferior al valor mínimo del rango terapéutico eficaz ($\overline{C_pAS_t} = 13,75$ mg/100ml) y el $\overline{C_pAS}$ obtenido fue de 0,36 mg/100ml.

Tabla X. Paciente n° 4. (A.R.P.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	6,68	0,09	0,013	5	7,5		
2h	17,49	0,41	0,023	5,5	7		
4h	16,86	0,58	0,034	6	8	13,75	0,36
8h	13,78	0,35	0,039	5,5	6,5		
12h	8,81	0,16	0,018	5,5	7		

Figura 14

Paciente nº 4 (A.R.P.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t) de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 5 (S.M.V.)

En la tabla XI se muestran los valores de las concentraciones plasmáticas y salivares de salicilato, a tiempo 0, y a las 2, 4, 8 y 12 horas de la administración de aspirina. Esta paciente presentó las concentraciones plasmáticas de salicilato total más bajas de todo el grupo (rango: 3,81-13,93 mg/100ml). En la figura 15.A se representa la C_pAS_t frente al tiempo y se observa que el valor máximo de esta concentración se registró a las 2 horas y luego fue disminuyendo progresivamente. También las concentraciones salivares de salicilato fueron las menores (rango: 0-0,55 mg/100ml). En la figura 15.B, donde se muestra las variaciones de la C_sAS , en el intervalo de 12 horas, se observa que la C_sAS siguió una evolución paralela a la C_pAS_t , también con un máximo a las 2 horas. En cuanto a la relación C_pAS/C_sAS_t se obtuvo el valor más elevado a las 4 horas, alcanzándose valores muy bajos posteriormente.

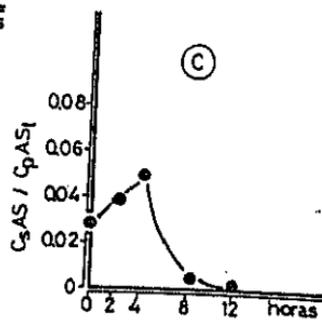
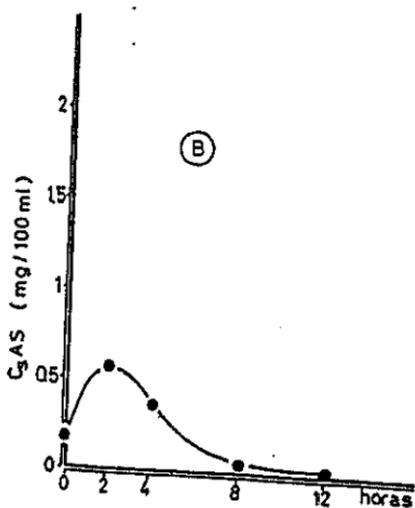
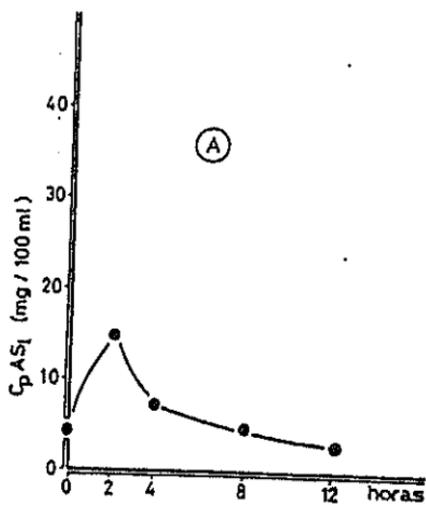
El pH urinario osciló entre 6 y 7,5 y el pH salivar varió escasamente, entre 7 y 7,5. Estos datos se muestran en la tabla XI. Como cabía esperar, los promedios de las concentraciones de salicilato, en el intervalo de 12 horas, tanto para plasma como para saliva fueron los más bajos de todo el grupo ($C_pAS_t = 6,66$ mg/100ml y $C_sAS = 0,19/100ml$, respectivamente).

Tabla XI. Paciente n° 5. (S.M.V.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_{pAS_t}), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_{pAS_t}), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_{pAS_t}}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_{pAS_t} (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_{pAS_t}	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_{pAS_t}}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	4,34	0,13	0,029	6	7,5		
2h	13,93	0,55	0,039	6,3	7		
4h	7	0,35	0,049	7,5	7	6,66	0,19
8h	4,78	0,02	0,004	6,5	7		
12h	3,81	0	0	6,5	7		

Figura 15

Paciente nº 5 (S.M.V.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre las 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 6 (S.S.A.)

En la tabla XII se muestran las concentraciones plasmáticas y salivares de salicilato. En este paciente se observaron la C_{pAS} y la C_{sAS} más elevadas de todos el grupo (C_{pAS} : 40,49 mg/100ml y C_{sAS} : 5,075/100ml respectivamente). La C_{pAS} máxima se alcanzó a las 8 horas de la administración de aspirina, sin embargo en saliva se obtuvo a las 2 horas de la toma de AAS. En la figura 16.A y 16.B se observan las curvas de la C_{pAS} y C_{sAS} , frente al tiempo, en el intervalo de 12 horas. En la figura 16.C se aprecia la gran variabilidad del cociente C_{sAS}/C_{pAS} en este paciente, con una amplitud de 0,081 a 0,155.

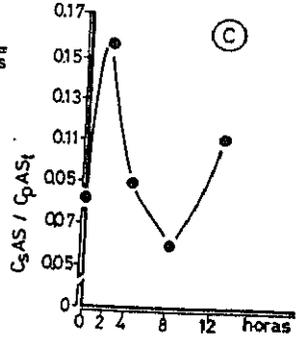
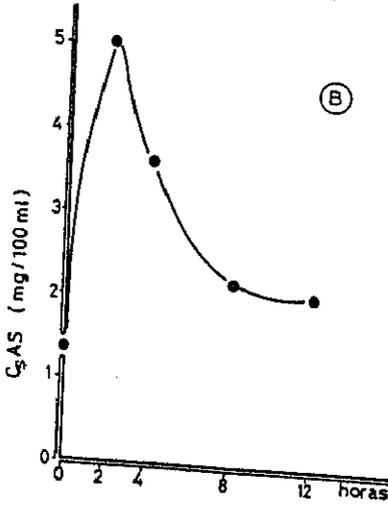
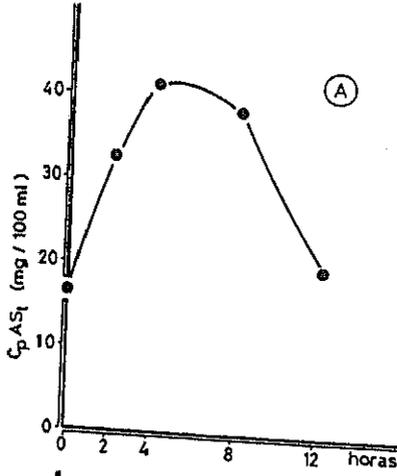
En la tabla XII se detallan los valores del pH urinario y del pH salivar. El primero osciló entre 5 y 5,5, siendo el rango del pH salivar mayor (entre 7 y 8,5). Tanto el $\overline{C_{pAS}}$, como el $\overline{C_{sAS}}$ se mostraron muy elevados (32,89 y 2,96 mg/100ml, respectivamente).

Tabla XII. Paciente nº 6. (S.S.A.) Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	16,34	1,33	0,081	5	7,5		
2h	32,60	5,07	0,155	5	7		
4h	40,94	3,65	0,089	5,5	7,5	32,89	2,96
8h	37,69	3,20	0,058	5	7,5		
12h	19,77	2,18	0,110	5,5	8,5		

Figura 16

Paciente nº 6 (S.S.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 7 (A.M.V.)

En la tabla XIII se observan las variaciones de las concentraciones plasmáticas de AS total y en la figura 17.A, representación gráfica de la C_pAS_t frente al tiempo, se muestra la progresiva elevación de la C_pAS_t , hasta alcanzar su máximo (29,74 mg/100ml) a las 4 horas. En la figura 17.B se muestra la evolución de la C_pAS en el intervalo de 12 horas. El máximo de las C_pAS se obtuvo a las 2 horas (1,25 mg/100ml). En la figura 17.C. se observan las variaciones de la relación C_pAS/C_pAS_t , con el valor máximo a las 0 horas de la administración de aspirina. El rango de este cociente fue 0,014 a 0,077.

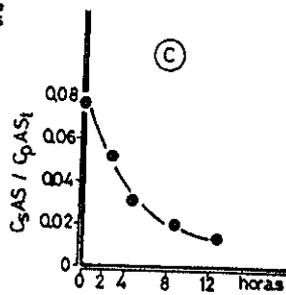
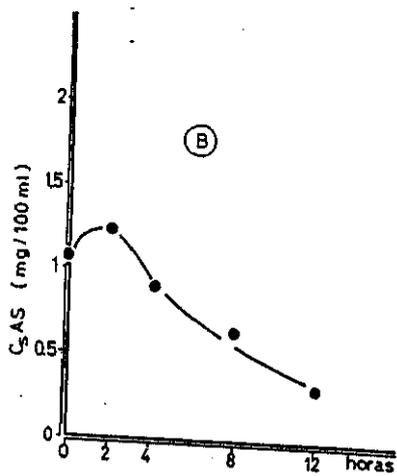
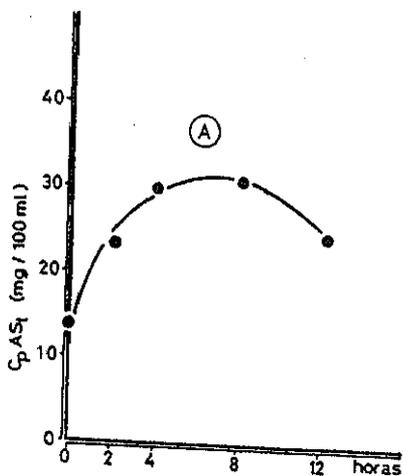
En la tabla XIII se indican también los resultados del pH urinario y del pH salivar en esta niña. El pH urinario osciló entre 5 y 6,5 en las 5 muestras de orina y el pH salivar entre 6,5 y 7,5. También se indican el valor de $\overline{C_pAS}_t$ (26,88 mg/100ml) y el del $\overline{C_pAS}$ (0,79 mg/100ml).

Tabla XIII. Paciente nº 7. (A.M.V.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	13,97	1,08	0,077	5	7,5		
2h	23,72	1,25	0,052	5	6,8		
4h	29,74	0,91	0,030	5,5	6,5		
8h	30,89	0,63	0,020	6,5	6,5	26,88	0,79
12h	24,21	0,34	0,014	6,5	6,5		

Figura 17

Paciente nº 7 (A.M.V.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 8 (C.M.L.)

Los resultados de la C_pAS_t , de la C_pAS y de la relación C_pAS/C_pAS_t , correspondientes a esta paciente, se muestran en la tabla XIV. Salvo la C_pAS_t de las 2 horas después de la administración de aspirina, el resto de las concentraciones plasmáticas de salicilatos total se mantuvieron por debajo de 15 mg/100ml. En la figura 18.A se muestra la evolución que siguió la C_pAS_t , en el intervalo de 12 horas. Las concentraciones salivares de AS oscilaron entre 0,01 y 0,40 mg/100ml, alcanzándose el valor máximo a las 12 horas (Fig. 18.B). En la figura 18.C se muestran las variaciones del cociente C_pAS/C_pAS_t , en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina (rango: 0,001-0,024).

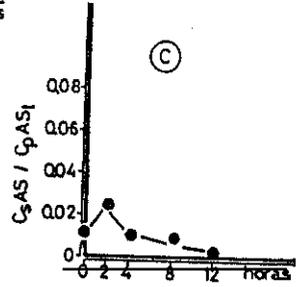
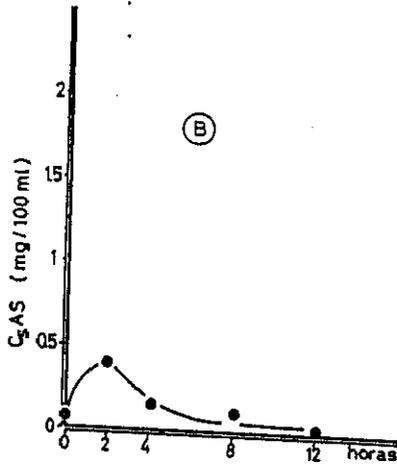
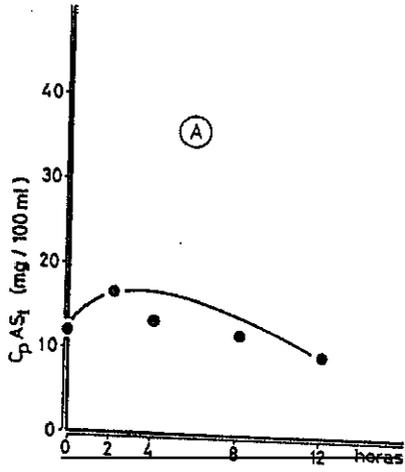
En la tabla XIV se detallan los valores de pH urinario (rango: 5-7) y del pH salivar (rango: 6,5-7,5). El $\overline{C_pAS}$, para este paciente, fue de 12,42 mg/100ml y el $\overline{C_pAS}$ de 0,15mg/100ml.

Tabla XIV. Paciente nº 8. (C.M.L.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	11,17	0,11	0,009	5	7		
2h	16,33	0,40	0,024	5,5	7,5		
4h	13,06	0,13	0,010	6,5	7	12,42	0,15
8h	11,78	0,11	0,009	7	7		
12h	9,48	0,01	0,002	6,5	6,5		

Figura 18

Paciente nº 8 (C.M.L.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_{pAS_t}), de las concentraciones salivares de salicilato (C_{sAS}) y de la relación entre ambas (C_{sAS}/C_{pAS_t}), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 9 (J.O.A.)

La tabla XV muestra las variaciones de la C_pAS_t y de la C_uAS . La C_pAS_t osciló entre 7,42 y 16,87 mg/100 ml. Como se observa en la figura 19.A, el máximo de la C_pAS_t (16,87 mg/100ml) se obtuvo a las 4 horas de la toma del AAS, descendiendo hasta 9,82 mg/100ml, a las 12 horas. El rango de la C_uAS fue de 0,34 a 0,86 mg/100ml. El máximo de la C_uAS , se alcanzó sin embargo, a las 2 horas (figura 19.B). En cuanto a la relación C_uAS/C_pAS_t , la amplitud fue de 0,025 a 0,071. En la figura 19.C se observa la variación de este cociente, a lo largo del intervalo de 12 horas.

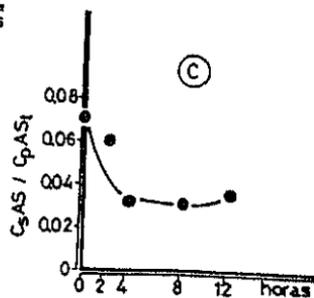
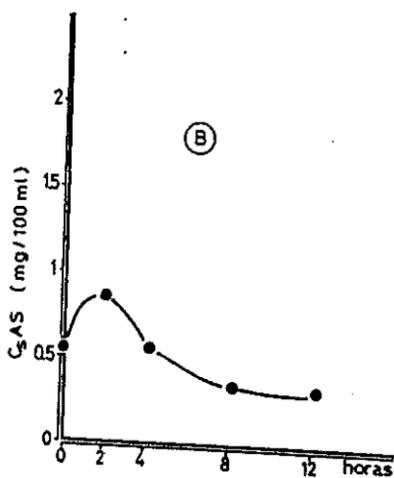
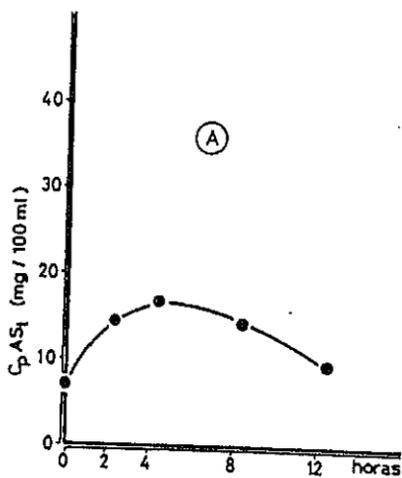
Los valores del pH urinario y del pH salivar se muestran en la tabla XV. El pH en orina varió entre 5 y 6,5 y el pH en saliva entre 7 y 7,5. El $\overline{C_pAS}_t$ se acercó a 15 mg/100ml ($\overline{C_pAS}_t=13,60$ mg/100ml) y el $\overline{C_uAS}$ fue de 0,50 mg/100ml (tabla XV).

Tabla XV. Paciente nº 9. (J.O.A.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_pAS/C_sAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_pAS/C_sAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	7,42	0,53	0,071	5	7		
2h	14,47	0,86	0,059	5,5	7		
4h	16,87	0,55	0,032	6,5	7,5	13,60	0,50
8h	14,17	0,36	0,025	6,5	7		
12h	9,82	0,34	0,034	6,5	7		

Figura 19

Paciente nº 9. (J.O.A.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



Paciente nº 10 (R.G.S.)

En esta niña los valores de la C_pAS_t , a las 0, 2, 4 y 8 horas después de la toma de AAS, se mantuvieron dentro del margen terapéutico eficaz, no así la C_pAS_t de las 12 horas (tabla XVI). El máximo valor de la C_pAS_t se registró a las 2 horas (Figura 20.A). En la figura 20.B, se observa que la variación temporal de las concentraciones salivares de salicilato fue similar a la de las concentraciones plasmáticas de salicilato total. La relación C_sAS/C_pAS_t mostró un valor mínimo y máximo de 0,023 y 0,040, respectivamente. En la figura 20.C, se ha representado la variación temporal de este cociente, en el intervalo de 12 horas.

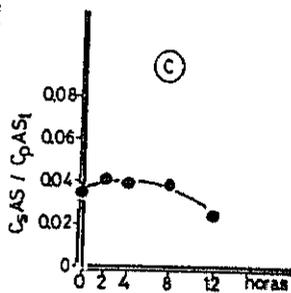
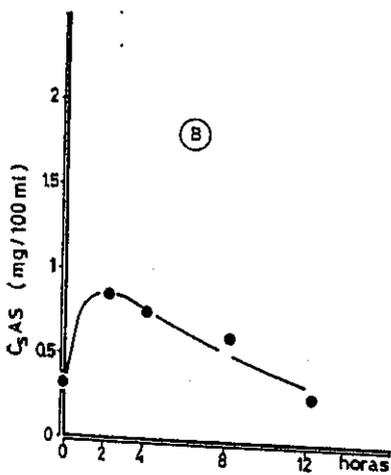
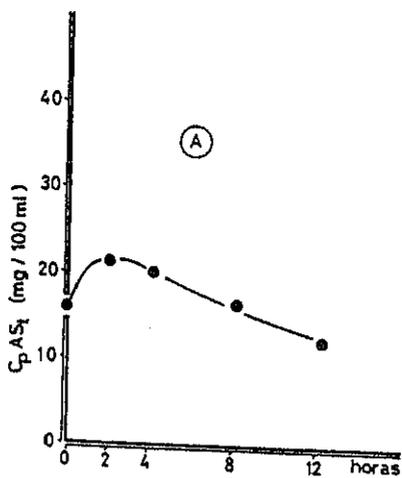
En la tabla XVI se observa que el pH registrado en las distintas muestras de orina osciló entre 5 y 6, no mostrando variación alguna el pH salivar. El C_pAS_t se detalla también en la tabla XVI; su valor fue de 17,29 mg/100 ml y el del C_sAS de 0,64 mg/100 ml.

Tabla XVI. Paciente nº 10. (R.G.S.). Variación de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS), de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), del pH en orina y del pH salivar en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina. Se muestran también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$) y el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$), en el intervalo de 12 horas.

Muestra	C_pAS_t (mg/100ml)	C_sAS (mg/100ml)	C_sAS/C_pAS_t	pH en orina	pH en saliva	$\overline{C_pAS_t}$ (mg/100ml)	$\overline{C_sAS}$ (mg/100ml)
0h	16,24	0,54	0,033	5,5	7		
2h	21,36	0,87	0,040	5	7		
4h	19,77	0,77	0,038	5,5	7	17,29	0,64
8h	16,25	0,63	0,038	6	7		
12h	12,14	0,28	0,023	5,5	7		

Figura 20

Paciente nº 10 (R.G.S.). Variaciones de las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t), de las concentraciones salivares de salicilato (C_sAS) y de la relación entre ambas (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina.



2.2. Resultados Globales

2.2.1. Concentraciones de salicilato total en plasma:

Este estudio se diseñó con objeto de determinar las concentraciones plasmáticas de salicilato, en estado de equilibrio. Para valorar si se había alcanzado esta situación se compararon, en el décimo día de tratamiento con aspirina, las concentraciones plasmáticas de salicilato total a las 0 horas (inmediatamente antes de la primera toma de aspirina) y a las 12 horas (inmediatamente antes de la 2ª toma del fármaco). Cuando el cociente entre ambas concentraciones se aproxima a la unidad se dice que se ha alcanzado el estado de equilibrio. En la tabla XVII se muestra la relación $C_{pAS_t}(0h)/C_{pAS_t}(12h)$ para cada paciente. Como se deduce de ella, hubo 2 niños, los pacientes nº 1 y nº 7, que no alcanzaron el estado de equilibrio, ya que presentaron una relación de 2'29 y 0'57, respectivamente. Sin embargo, en los restantes 8 niños la $\bar{X} \pm ES$ de este cociente fue de $1'04 \pm 0'076$.

Los niveles plasmáticos de AS_t variaron ampliamente, entre 3'81 y 40'94 mg/100ml. La $\bar{X} \pm ES$, de las 50 determinaciones de la C_{pAS_t} , fue de $17'32 \pm 1'21$, mg/100ml. En la tabla XVIII, se detallan la \bar{X} , el ES y el rango de, las concentraciones plasmáticas de salicilato total, a tiempo, 0 y a las 2,4,8 y 12 horas, después de la administración de aspirina. En la figura 21, se representa la variación

del valor medio de las concentraciones plasmáticas de AS_t , en los 10 pacientes estudiados, en el intervalo, de 12 horas. Como muestra la figura la variabilidad fue muy amplia, siendo más manifiesta a las 4 y a las 8 horas. También se observa que, en general, la mayor C_pAS_t se obtuvo a las 2 horas, aunque individualmente algún paciente tardó más tiempo en alcanzar el valor máximo.

En cada paciente se calculó también el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, ($\overline{C_pAS_t}$) en el intervalo de dosis. La $\bar{x} \pm ES$ de estos promedios, en los 10 pacientes estudiados fue de $18'28 \pm 1'08$ mg/100ml.

En los pacientes en estado de equilibrio, se determinó la relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato total máxima y mínima (Rel. máx:mín). Esta relación se calculó dividiendo la C_pAS_t máxima entre el $\overline{C_pAS_t}$, es decir,

$$\text{Rel. máx:mín} = \frac{C_pAS_t \text{ máxima}}{\overline{C_pAS_t}}$$

En la tabla XIX se detalla esta relación para los 8 pacientes, en estado de equilibrio. El rango de esta relación fue de 1'09 a 2'09. En aquellos pacientes con un $\overline{C_pAS_t}$ dentro del margen terapéutico considerado eficaz, (pacientes marcados con un asterisco, en la tabla XIX), los valores de la Rel. máx:mín se encontraron entre 1'23 y 1'28.

Tabla XVII. Relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t) a las 0 y 12 h de la administración de aspirina en los 10 pacientes estudiados. Aquellos señalados con un asterisco (pacientes nº 1 y nº 7) no alcanzaron el estado de equilibrio, ya que en éstos, la relación entre ambas concentraciones no se aproximaba a la unidad.

Paciente	C_pAS_t (0h)	C_pAS_t (12h)	C_pAS_t (0h)/ C_pAS_t (12h)
nº1 (E.A.P.)*	19'3	8'4	2'29
nº2 (A.C.R.)	12	10'2	1'17
nº3 (G.C.A.)	16'55	13'15	1'25
nº4 (A.R.P.)	6'68	8'81	0'75
nº5 (S.M.V.)	4'34	3'81	1'13
nº6 (S.S.A.)	16'34	19'77	0'82
nº7 (A.M.V.)*	13'97	24'21	0'57
nº8 (C.M.L.)	11'17	9'48	1'17
nº9 (J.O.A.)	7'42	9'82	0'75
nº10 (R.G.S.)	16'24	12'14	1'33

Tabla XVIII. Valores de la media (\bar{X}), error standard (ES) y rango de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a la 2,4,8 y 12 horas de la administración de aspirina.

Tiempo	\bar{X}	ES	Rango	N
0h	12'40	1'48	4'34-19'3	10
2h	22'37	2'12	13'93-32'16	10
4h	21'15	2'80	7'00-40'94	10
8h	18'74	2'91	4'78-37'69	10
12h	9'97	1'77	3'81-24'21	10

Figura 21

Variación de la concentración plasmática media de salicilato total (C_pAS_t) entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados. Las barras indican el error standard de la media.

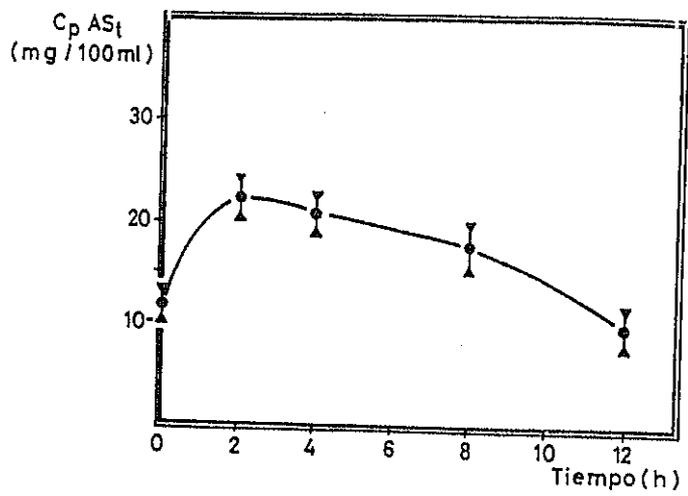


Tabla XIX. Relación entre las concentraciones máxima y mínima de salicilato total en plasma (Rel. máx: mín), en los 8 pacientes que alcanzaron el estado de equilibrio. Esta relación se calculó dividiendo la concentración plasmática máxima de salicilato total. (C_{pAS_t} máx) entre el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total en el intervalo de 12 h (C_{pAS_t}). Los pacientes señalados con un asterisco, presentaron un C_{pAS_t} considerado terapéuticamente eficaz.

Paciente	$C_{pAS_{máx}}$	C_{pAS_t}	Rel. máx:mín
n°2 (A.C.R.)*	21'90	17'22	1'27
n°3 (G.C.A.)*	29'80	23'18	1'28
n°4 (A.R.P.)	17'49	13'75	1'27
n°5 (S.M.V.)	13'93	6'66	2'09
n°6 (S.S.A.)*	40'94	32'89	1'24
n°8 (C.M.L.)	16'33	12'42	1'31
n°9 (J.O.A.)	16'87	13'60	1'09
n°10 (R.G.S.)*	21'36	17'29	1'23

2.2.2. Concentraciones salivares de salicilato

Los niveles de AS en saliva variaron entre 0 y 5'07 mg/100ml, siendo la $\bar{X} \pm ES = 0'82 \pm 0'13$ mg/100ml (N=50).

En la tabla XX se muestran los valores de la $\bar{X} \pm ES$ de los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a las 2,4,8 y 12 horas después de la administración de aspirina. En la figura 22 se representa el valor medio de las concentraciones salivares, frente al tiempo. El máximo valor de la C_{pAS} se obtuvo, en general, a las 2 horas de la toma de AAS. La variabilidad en las concentraciones salivares fue grande, obteniéndose una mayor dispersión a las 2 y 4 horas.

También se calculó el promedio de las concentraciones salivares de salicilato, en el intervalo de 12 horas (\bar{C}_{pAS}), para cada uno de los pacientes. El valor medio de estos promedios fue $0'84 \pm 0'25$ mg/100ml ($\bar{X} \pm ES$).

2.2.3. Valores del cociente C_{pAS}/C_{pAS_t}

Es conveniente para la determinación indirecta de la C_{pAS_t} , por medio de la saliva, que la relación C_{pAS}/C_{pAS_t} se mantenga constante entre diferentes individuos e incluso en un mismo sujeto a lo largo del tiempo. Este cociente no se mantuvo constante en ninguno de los pacientes estudiados, a lo largo del intervalo de 12 horas, ni tampoco

entre los 10 niños, ya que se observó una gran variabilidad entre ellos.

En la tabla XXI se muestran la \bar{X} , el ES y el rango de este cociente, en los 10 pacientes, a tiempo 0 y a las 2,4,8 y 12 horas después de la toma de AAS.

En la figura 23 se representa la variación temporal del valor medio de este cociente, en el grupo de pacientes del estudio, durante el intervalo de 0 a 12 horas. Se puede observar que este cociente ascendió de 0'040 (a las 0 horas) a 0'054 (a la 2 horas) y posteriormente fue disminuyendo hasta 0'031 (a la 8 horas) para mantenerse constante hasta el final del intervalo.

En vista de las apreciables variaciones intraindividuales en la relación C_{pAS}/C_{pAS_t} , se valoró la posibilidad de utilizar la relación entre el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total, en el intervalo de 12 horas ($\overline{C_{pAS}}/\overline{C_{pAS_t}}$), en los pacientes que habían alcanzado el estado de equilibrio. Esta relación $\overline{C_{pAS}}/\overline{C_{pAS_t}}$ osciló de 0'012 a 0'090, con una $\bar{X} \pm ES$ de $0'041 \pm 7'8.10^{-3}$. Estos datos se muestran en la tabla XXII.

2.2.4. Valores del pH urinario

El rango del pH urinario osciló entre 5 y 7'5, en las 50 muestras de orina. En la figura 24 se representan los valores medios del pH en orina, en los 10 niños estudiados, a tiempo 0 y a las 2,4,8 y 12 horas después de la

administración de aspirina. Se observa en esta figura que los valores del pH aumentaron hasta las 4 horas y luego se mantuvieron alrededor de 6.

2.2.5. Valores del pH salivar

El valor del pH salivar, varió entre 6'5 y 8'5 (N=50). En la figura 25 se muestran los valores medios del pH salivar, en los 10 pacientes estudiados durante el intervalo de 12 horas, tras la administración de aspirina. Se observa que los ascensos y descensos del valor del pH salivar fueron discretos. En la figura 25 las flechas representan las diferentes comidas (desayuno, comida, merienda y cena). Las variaciones del pH salivar no parece que se relacionan con la ingesta de alimentos.

Tabla XX. Valores de la media (\bar{X}), error standard (ES) y rango de las concentraciones salivares de salicilato, en los 10 pacientes estudiados, a tiempo 0 y a las 2,4,8 y 12 horas de la administración de aspirina.

Tiempo	\bar{X}	ES	Rango	N
0h	0'52	0'12	0'09-1'33	10
2h	1'36	0'43	0'40-5'07	10
4h	1'06	0'29	0'13-3'65	10
8h	0'66	0'18	0'02-2'20	10
12h	0'46	0'18	0-2'18	10

Figura 22

Variación de la concentración salivar media de salicilato (C_sAS), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados. Las barras indican el error standard de la media.

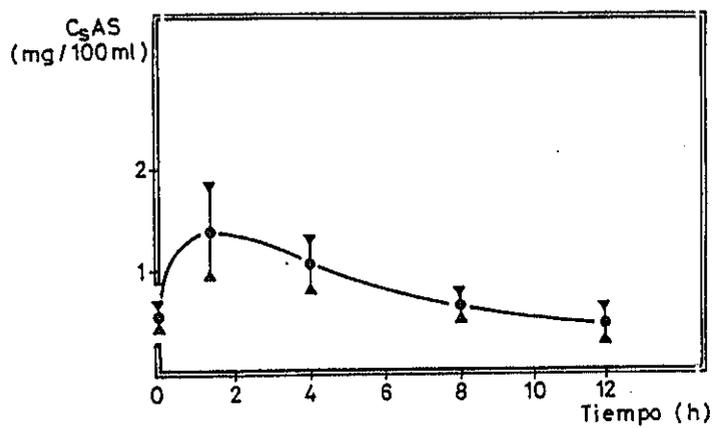


Tabla XXI. Valores de la media (\bar{x}), error standard (ES) y rango del cociente C_{AS}/C_{AS_0} en los 10 pacientes estudiados a tiempo 0 y a las 2,4,8 y 12 horas de la administración de aspirina.

Tiempo	\bar{x}	ES	Rango	N
0h	0'040	$7'9 \cdot 10^{-3}$	0'009-0'081	10
2h	0'054	$11'06 \cdot 10^{-3}$	0'023-0'155	10
4h	0'045	$6'6 \cdot 10^{-3}$	0'010-0'089	10
8h	0'030	$5'6 \cdot 10^{-3}$	0'004-0'060	10
12h	0'031	$9'4 \cdot 10^{-3}$	0-0'110	10

Figura 23

Variación del valor medio de la relación entre la concentración salivar de salicilato y la concentración plasmática de salicilato total (C_sAS/C_pAS_t), entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados. Las barras indican el error standard de la media.

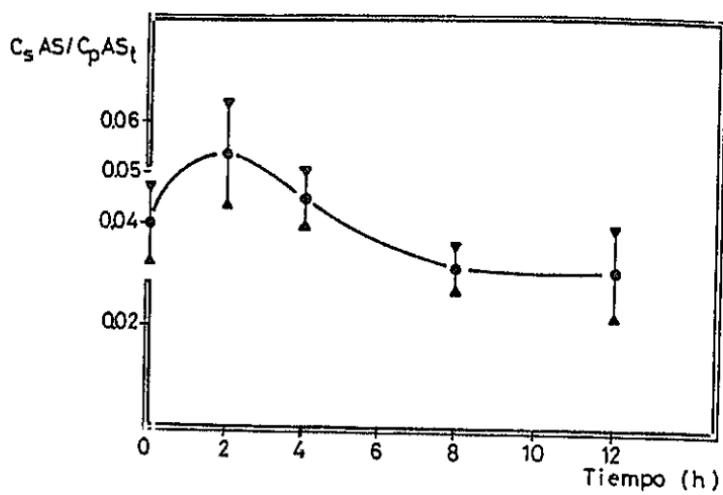


Tabla XXII. Resultados de la relación entre el promedio de las concentraciones salivares de salicilato ($\overline{C_sAS}$) y el promedio de las concentraciones plasmáticas de salicilato total ($\overline{C_pAS_t}$), en el intervalo de 12 horas ($\overline{C_sAS}/\overline{C_pAS_t}$), en los 8 pacientes en estado de equilibrio.

Pacientes	$\overline{C_sAS}$	$\overline{C_pAS_t}$	$\overline{C_sAS}/\overline{C_pAS_t}$
nº2 (A.C.R.)	0'95	17'22	0'055
nº3 (G.C.A.)	1'06	23'18	0'045
nº4 (A.R.F.)	0'36	13'75	0'026
nº5 (S.M.V.)	0'19	6'66	0'028
nº6 (S.S.A.)	2'96	32'89	0'090
nº8 (C.H.L.)	0'15	12'42	0'012
nº9 (J.O.A.)	0'50	13'60	0'036
nº10 (R.G.S.)	0'64	17'29	0'037

$\bar{x} \pm ES = 0'041 \pm 7'8 \cdot 10^{-3}$
 rango = 0'012-0'090

Figura 24

Variación del valor medio del pH en orina, entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados. Las barras indican el error standard de la media.

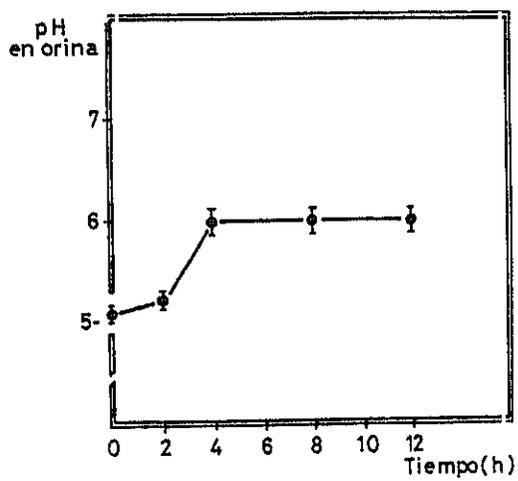
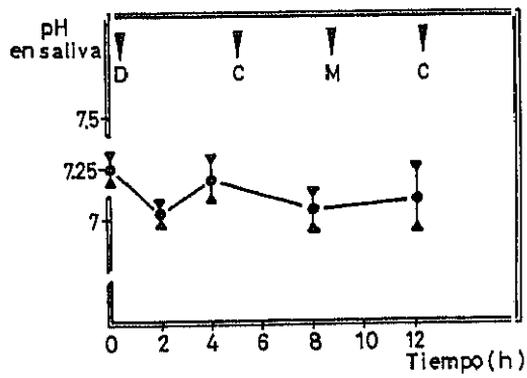


Figura 25

Variación del valor medio del pH salivar, entre 0 y 12 horas, después de la administración de aspirina, en los 10 pacientes estudiados. Las barras indican el error standard de la media y las flechas coinciden con las comidas realizadas por los niños (D=Desayuno, C=Comida, M=Merienda, C=Cena).



2.3. Resultados de los análisis de regresión y correlaciones

Se comentan a continuación los diferentes análisis de regresión realizados, así como las correlaciones entre las diferentes variables estudiadas.

2.3.1. Relación entre las concentraciones salivares de AS y las concentraciones plasmáticas de salicilato total

Se realizó un análisis de regresión para los 50 valores de C_sAS y para los 50 de C_pAS , obtenidos, observándose una buena correlación lineal entre ambas variables ($r=0,74$, $p<0,00001$). En la figura 26 se muestra la nube de puntos y la recta de regresión $y=11,63+6,91x$.

2.3.2. Relación entre las concentraciones salivares de salicilato y el pH salivar

No se observó una relación de dependencia entre ambas variables, ya que se obtuvo un coeficiente de correlación $r=0,19$, $p>0,01$ (N.S.). En la figura 27 se muestra la nube de puntos.

2.3.3. Relación entre el cociente C_sAS/C_pAS y el pH salivar

Analizando estas dos variables se obtuvo un coeficiente de regresión $r=0,26$, $p>0,01$ (N.S.), sin significa-

ción estadística. Podemos concluir que ambas variables son independiente (Fig. 28).

2.3.4. Relación entre las concentraciones plasmáticas de AS y el pH urinario

Tampoco entre estas dos variables existió relación de dependencia ($r=0,29$, $p>0,01$, N.S.). En la figura 29 se muestra la nube de puntos.

2.3.5. Relación entre las concentraciones salivares de salicilato y el pH urinario

Para el nivel de significación establecido ($p<0,01$) no existió relación de dependencia entre ambas variables. De ello da idea la figura 30 que muestra la nube de puntos. ($r=0,35$, $p=0,011$, N.S.).

2.3.6. Relación entre la C_pAS_t y el cociente C_{AS}/C_pAS_t

El cociente C_{AS}/C_pAS_t depende directamente de la C_pAS_t ya que se obtuvo un coeficiente de regresión $r=0,47$ que resultó muy significativo ($p=0,0005$). En la figura 31 se muestra la nube de puntos y la recta de regresión $y = 11,63 + 141,43x$. Se puede deducir que cuanto mayor sea la C_pAS_t mayor será también el cociente C_{AS}/C_pAS_t .

2.3.7. Relación entre el cociente C_{AS}/C_{pAS_t} y el pH urinario

Se observó una relación de dependencia inversa entre ambas variables que no es atribuible al azar ($r=-0,38$, $p=0,006$), de tal forma, que al aumentar el pH urinario disminuye la relación C_{AS}/C_{pAS_t} . En la figura 32 se muestra la nube de puntos y la recta de regresión $y=6,09-9,14x$.

En la tabla XXIII se resumen todas las relaciones analizadas entre las diferentes variables, detallando los coeficientes de correlación y la existencia o no de significación estadística.

Figura 26

Relación entre la concentración salivar de salicilato (C_{sAS}) y la concentración plasmática de salicilato total (C_{pASt}), en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 pares de muestras de plasma y de saliva de cada niño, en el intervalo de 0 a 12 horas después de la administración de aspirina.

$$y = 11,63 + 6,91 x \quad (r = 0,74, p < 0,00001)$$

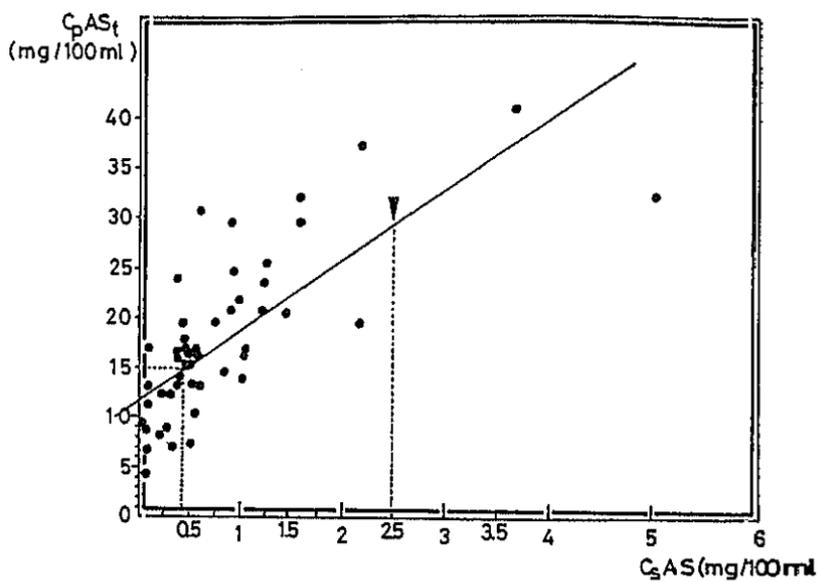


Figura 27

Relación entre la concentración salivar de salicilato (C_sAS) y el pH en saliva, en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de saliva en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina. ($r = 0,19$, $p > 0,01$). Las cifras indican el nº de determinaciones que coinciden en el punto señalado.

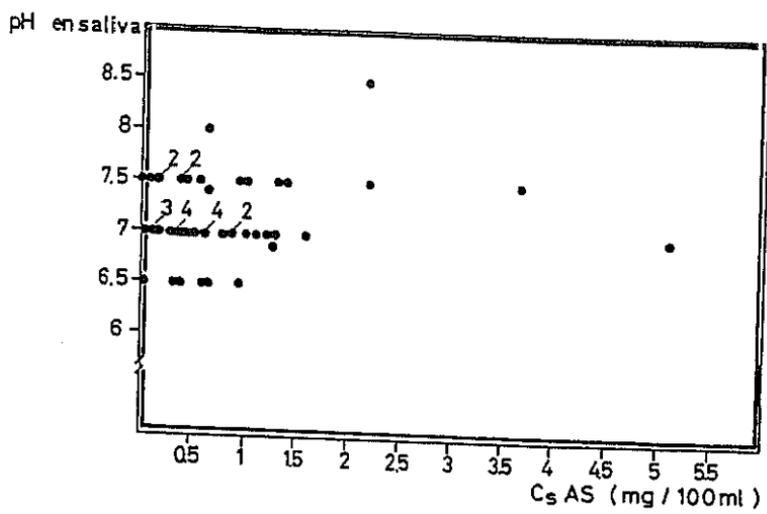


Figura 28

Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_{sAS}/C_{pAS}) y el pH en saliva, en los 10 paciente estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma y de saliva en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina ($r=0,26$, $p>0,01$). Las cifras indican el número de determinaciones que coinciden en el punto señalado.

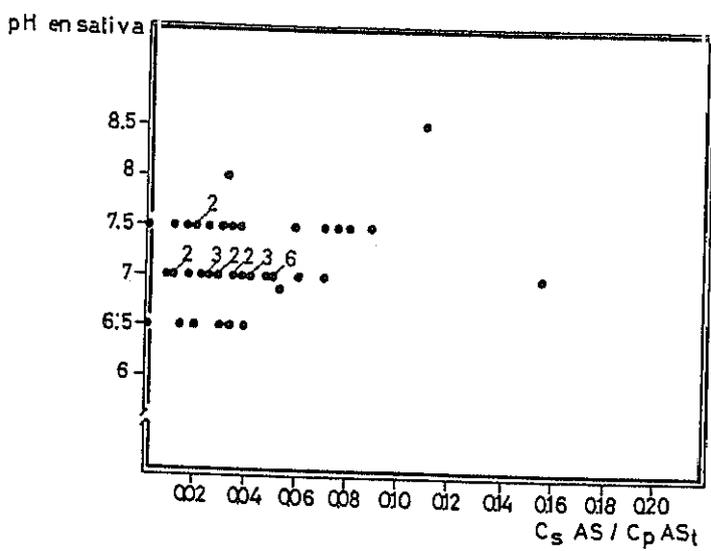


Figura 29

Relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato total (C_pAS_t) y el pH en orina, en los 10 niños estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma y 5 de orina en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina ($r=0,29$, $p>0,01$). Las cifras indican el número de determinaciones que coinciden en el punto señalado.

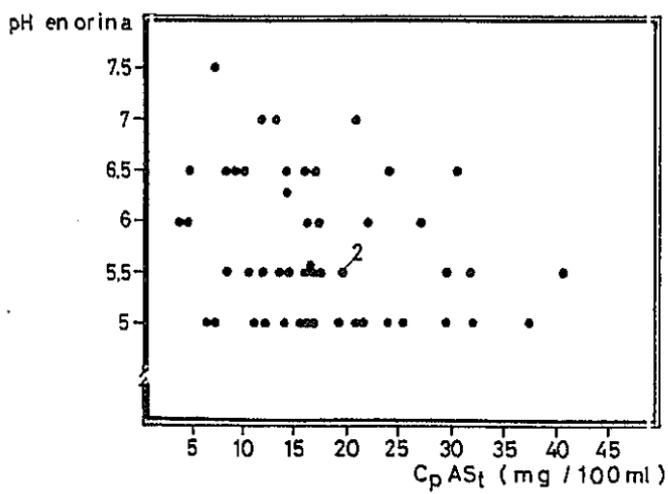


Figura 30

Relación entre la concentración salivar de salicilato (CAS) y el pH en orina en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de saliva y 5 de orina en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas después de la administración de aspirina ($r=0,35$, $p=0,011$). Las cifras indican el número de determinaciones que coinciden en el punto señalado.

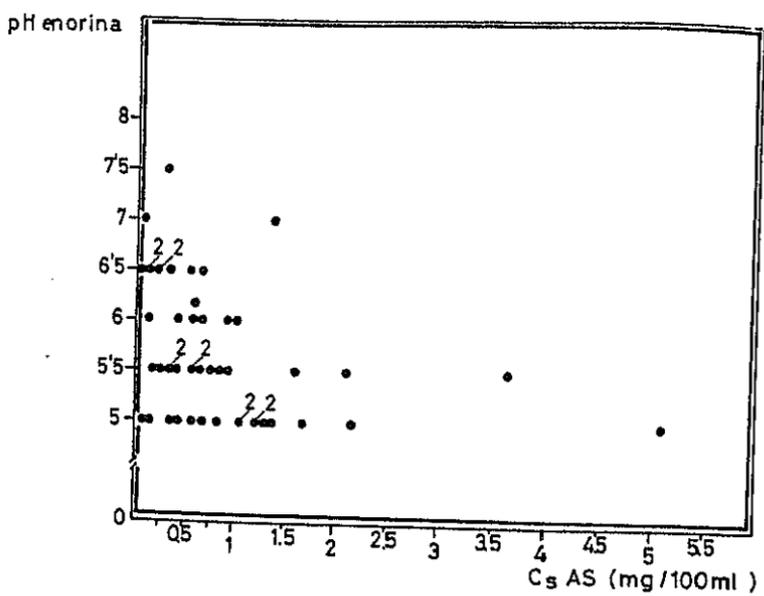


Figura 31

Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_sAS/C_pAS_t) y la concentración plasmática de salicilato total (C_pAS_t), en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 pares de muestras de plasma y de saliva en cada niño, en el intervalo entre 0 y 12 horas, después de la administración de aspirina ($y = 11,63 + 141,43 x$, $r = 0,47$, $p = 0,0005$).

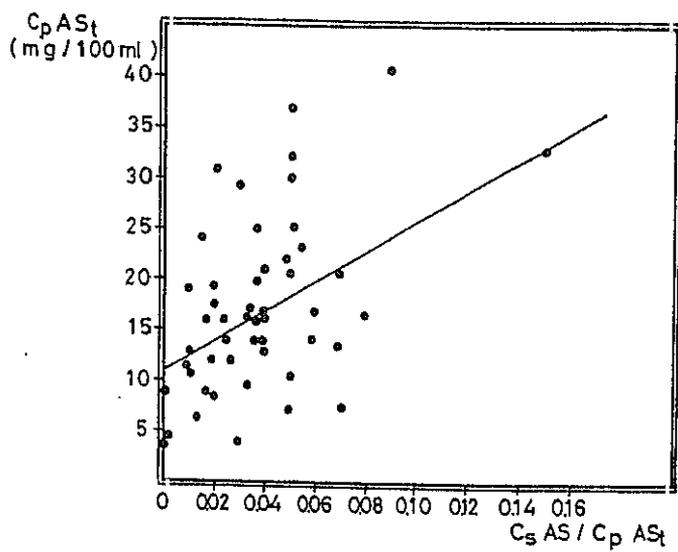


Figura 32

Relación entre el cociente de la concentración salivar y plasmática de salicilato (C_sAS/C_pAS_t) y el pH en orina, en los 10 pacientes estudiados. Se obtuvieron 5 muestras de plasma, 5 de saliva y 5 de orina en cada niño, en el intervalo de 0 y 12 horas después de la administración de aspirina ($r=-0,38$, $p<0,01$). Las cifras indican el número de determinaciones que coinciden en el punto señalado.

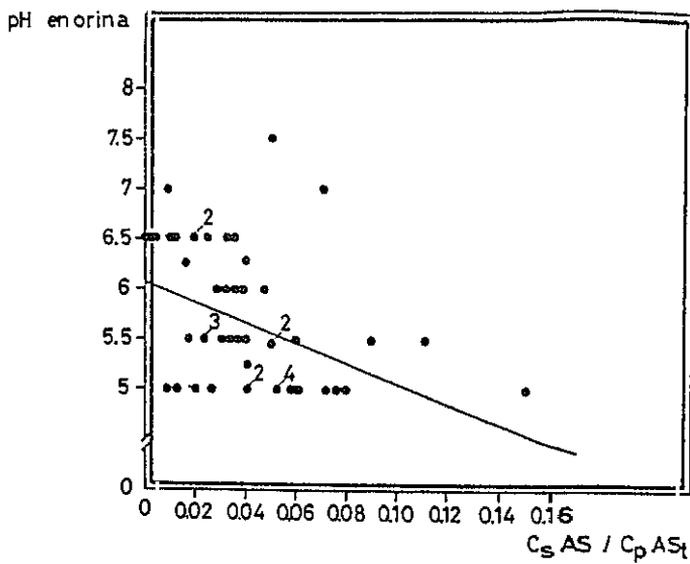


Tabla XXIII. Resumen de las correlaciones estudiadas. Se detallan el coeficiente de correlación y la significación estadística.

Los asteriscos indican las correlaciones que resultaron significativas.

(N.S. = no significativo)

Variables	C_pAS_t	C_pAS	C_pAS/C_pAS_t
C_pAS	$r = 0,74 *$ $p < 0,01$		
pH salivar		$r = 0,19$ $p > 0,01$ (N.S.)	$r = 0,26$ $p > 0,01$ (N.S.)
pH urinario	$r = 0,29$ $p > 0,01$ (N.S.)	$r = 0,35$ $p > 0,01$ (N.S.)	$r = -0,38$ $p < 0,01 *$
C_pAS_t			$r = 0,47$ $p < 0,01 *$

V. DISCUSSION

V. DISCUSION

El análisis cromatográfico propuesto en la presente investigación ha permitido detectar hasta 5ng de AS, empleando tan solo 0'5 ml de plasma o de saliva. El escaso volumen de la muestra utilizada supone una gran ventaja al tratarse de pacientes pediátricos.

El coeficiente de regresión de las rectas de calibración directa e indirecta (Figs. 9 y 10), alrededor de 1.0, indica que el método es lineal, al menos en el rango de las concentraciones ensayadas.

La hidrólisis del AAS a AS, producida por las esterazas plasmáticas se ha evitado bloqueando la actividad de estas enzimas. Para ello se ha empleado una disolución saturada de fluoruro sódico. Rowland y Riegelman (124) recomiendan recoger las muestras de sangre con fluoruro y extraer el plasma y congelarlo inmediatamente. Pero, incluso muestras congeladas de plasma, conteniendo AAS, tienen una vida media de hidrólisis de 24 días (113). Por este motivo, en el presente estudio, los análisis de las muestras se realizaron en los 7 días siguientes a su congelación. Existen resultados contradictorios en la bibliografía sobre la eficacia de algunos inhibidores enzimáticos. Cham et al. (139) encontraron que la acción inhibidora del fluoruro potásico era incompleta y recomendaron el sulfato de fisostigmina.

Sin embargo, Nieder y Jaeger (120) afirmaron que la inhibición de las esteras plasmáticas por la fisiostigmina y el diisopropilfluorofosfato era menos eficaz que la producida por el fluoruro.

En la saliva no se previno la hidrólisis del AAS ya que según los estudios de Graham y Rowland (132) no se ha detectado hidrólisis significativa en las muestras de saliva.

Para la precipitación de proteínas se utilizó el ácido clorhídrico, consiguiéndose una precipitación total. Otros autores han utilizado el ácido perclórico (140), aunque parece que éste aumenta la hidrólisis del AAS. Para Nieder y Jaeger (120) mezclar plasma y acetonitrilo, en la misma proporción, da lugar a un sobrenadante con pocas interferencias sobre los picos cromatográficos de interés. También se han utilizado mezclas de ácido perclórico con metanol (120).

En cuanto al agente extractor, después de comparar diferentes solventes orgánicos, el éter dietílico resultó ser el más eficaz, ya que tanto el AS como el AAS son muy solubles en él. Rowland y Riegelman (124) también utilizaron el éter dietílico para la extracción del AS del plasma. Sin embargo, Doudar et al. (119), comparando también diferentes solventes, encontraron una escasa recuperación del AS, con el éter dietílico (sólo el 34,7%). Para estos autores, la mayor recuperación de AS se obtuvo con acetato de etilo (98%). El cloroformo/isopropanol (1/1) consiguió

recuperar un 65,8% del AS y el dicloruro de etileno un 55%.

Otra cuestión que se valoró fue la posible sublimación del AS durante la evaporación. Este problema se evitó no empleando el vacío durante el proceso y retirando las muestras inmediatamente después de secarse. Mason y Billilan (141) observaron que el tiempo excesivo, la alta temperatura o el vacío aplicado durante el proceso de evaporación ocasionaban una sublimación del AS. Según Nieder y Jaeger (120) el AS puede evaporarse a temperaturas inferiores a 20°C. Estos autores observaron que con temperaturas de evaporación por encima de 20°C, disminuye mucho la precisión del análisis cromatográfico posterior.

Los métodos analíticos empleados, hasta el momento, para determinar el AS en material biológico son numerosos. Sin embargo, la falta de especificidad de los métodos colorimétricos (102, 103) o el problema de la derivatización necesaria, cuando se emplea la Cromatografía de gases (113) limitan el uso de estas técnicas. La Cromatografía Líquida de Alta Resolución presenta enormes ventajas sobre los métodos analíticos antes mencionados. Hasta ahora no se había utilizado esta técnica para la determinación de la concentración de AS en saliva, si se había aplicado a plasma y a orina. Por tanto, la presente investigación supone una innovación en este aspecto.

Son numerosos los trabajos que han observado una gran variabilidad en las concentraciones plasmáticas de

salicilato total, en pacientes con ACJ tratados con dosis equivalentes de salicilato (43, 80, 81, 82, 83, 84). Este hecho también se ha observado en el presente estudio. Ello puede ser debido a las pronunciadas diferencias interindividuales en la cinética de eliminación del AS (43) y a la acumulación no lineal de la droga (68).

Es posible también que estas diferencias en la cinética de eliminación del AS, entre distintos individuos, o la falta del cumplimiento correcto del tratamiento (aunque todos los pacientes aseguraron haber seguido exactamente la terapia) hayan sido la causa de que 2 pacientes no alcanzaran el estado de equilibrio (situación que se produce cuando las concentraciones plasmáticas se repiten en los mismos valores tras cada administración del fármaco, lo que significa un estado de equilibrio entre la cantidad del fármaco administrada y la cantidad eliminada). Habitualmente, tras haber transcurrido 4 ó 5 vidas medias del fármaco (tiempo que tarda una sustancia en ver reducida su concentración en sangre en un 50%), se alcanza este estado, situación que se esperaba conseguir tras 9 días de tratamiento.

Generalmente, la administración de aspirina se recomienda cada 6 u 8 horas. Esta dosificación en la edad pediátrica resulta incómoda porque el niño ha de estar pendiente de la toma del medicamento durante el horario escolar. Un régimen cada 12 horas presenta más ventajas. Por un lado le permite tomar al niño la aspirina en su

casa, coincidiendo con el desayuno y la cena y por otro lado le asegura una pausa nocturna de 12 horas.

Durante los últimos años se han publicado diversos resultados sobre la efectividad de los salicilatos, administrados en 2 tomas al día. Cassell et al. (82), en 1979, en un estudio realizado en adultos con AR, que seguían tratamiento con trisalicilato de colina y magnesio, compararon un régimen cada 8 horas con otro cada 12 horas. Con este último se obtenían unos niveles de salicilato plasmático total entre 17 y 30 mg/100 ml, tras 5 días de terapia. La dosis administrada fue de 43 a 79 mg/kg/día.

Tres años más tarde, Butler et al. (90) publicaron un artículo analizando los resultados de la administración de AAS tamponado en 6 sujetos sanos. Emplearon un dosis diaria media de $41,8 \pm 5,4$ mg/kg peso ($\bar{x} \pm DS$) y obtuvieron concentraciones plasmáticas de salicilato total entre $11,6 \pm 6,5$ y $23 \pm 4,3$ mg/100 ml ($\bar{x} \pm DS$).

En 1985, Kvein et al. (92), en esta ocasión en pacientes pediátricos con ACJ, compararon dos pautas de administración de AAS (tabletas microencapsuladas), una de ellas cada 8 horas y la otra cada 12 horas. Demostraron que es posible obtener niveles de AS plasmático por encima de 15 mg/100 ml, durante la mayor parte del día, con el régimen de 2 tomas al día; la dosis empleada fue de 56-72 mg/kg/día. Además registraron unas concentraciones plasmáticas de salicilato más elevadas en la mañana y primera parte del día. Esto puede resultar beneficioso porque la

mayoría de los pacientes presentan más molestias durante la mañana (39).

Los resultados de todos estos trabajos nos decidieron a utilizar en nuestra investigación, un régimen cada 12 horas. De los 10 niños tratados, de esta manera, 6 obtuvieron un $\overline{C_pAS_t}$ dentro del margen plasmático terapéutico, otros 3 paciente se encontraron cerca del límite inferior considerado eficaz, ya que presentaron valores entre 12 y 14 mg/100 ml y sólo un paciente mantuvo cifras muy bajas ($\overline{C_pAS_t}$ de S.M.V. = 6,6 mg/100 ml). En estos 4 últimos niños, aunque mejoraron clínicamente, la dosificación resultó insuficiente. Creemos, sin embargo, que este régimen cada 12 horas en los pacientes nº 4 y nº 9, podría resultar efectivo, ya que no se produjeron caídas bruscas en la C_pAS_t (Figs. 14A y 19A). Simplemente se recomendó incrementar ligeramente la dosis. Por el contrario, los pacientes nº 5 y nº 8 presentaron un descenso más rápido en las concentraciones plasmáticas de AS (Figs. 15A y 18A). En estos 2 niños se modificó la dosis y el intervalo de dosis se redujo a 8 horas.

En el presente estudio, como en el de Kvein et al. (92) también se observaron mayores concentraciones plasmáticas de salicilato en la primera parte del día (Fig. 21).

Algunos autores se han preocupado de los cambios que se pueden producir en las concentraciones plasmáticas de salicilato, si se modifica el intervalo de dosis. Cala-

bro et al. (44) sugirieron que al incrementar la dosis fraccionada, para una misma dosis diaria se producen unas concentraciones plasmáticas de salicilato más elevadas, con lo cual se aumenta la incidencia de efecto adversos. Sin embargo, Levy y Giacomini (88) examinaron este problema, por simulación computarizada, y observaron que las diferencias en el tamaño de la dosis fraccionada y en el intervalo de la dosis tienen muy poca influencia sobre las concentraciones plasmáticas de salicilato total, una vez alcanzado el estado de equilibrio. Los datos de nuestra investigación son consistentes con esta conclusión. Para estudiar las variaciones en las concentraciones plasmáticas de salicilato, en un intervalo de 12 horas, se valoró la relación entre las concentraciones máxima y mínima plasmáticas. Esta relación en los pacientes de nuestro estudio que alcanzaron el estado de equilibrio, osciló entre 1,23 y 1,31 entre los que se encontraban con niveles plasmáticos de salicilato mayores de 15 mg/100ml (tabla XIX, pacientes marcados con un asterisco). Estos resultados son similares a los del estudio de Pachman et al. (91) realizado en niños con ACJ, que fueron tratados con AAS, cada 8 horas, durante 5 días (dosis diaria: 80 mg/kg). Estos autores comprobaron que con salicilemias mayores de 20 mg/100ml la Rel. máx:mín era menor de 1,3 y puede llegar a ser incluso más pequeña si la droga se administra más frecuentemente que cada 8 horas. Por tanto, el momento de la extracción de una muestra de sangre, durante un in-

tervalo de dosis de 8 ó 12 horas, no es crítico cuando se esperan concentraciones plasmáticas de salicilato total mayores de 15 mg/100 ml, ya que no se observan fluctuaciones apreciables en la C_{pAS} , en estos intervalos de dosis de 8 y 12 horas. Sin embargo, con cifras de salicilemia bajas (Tabla XIX, paciente nº 5) las concentraciones plasmáticas varían más y la Rel. máx:mín puede ser mayor de 2.

Queremos resaltar la escasa incidencia de efectos adversos en nuestro grupo de pacientes. De todos ellos, sólo un paciente refirió náuseas y en ninguno de los controles hematológicos se observaron alteraciones atribuibles a la terapia. Esta falta de toxicidad probablemente está en relación con las concentraciones plasmáticas obtenidas, ya que sólo en un caso se obtuvo un $\overline{C_{pAS}}$ mayor de 30 mg/100 ml y aún así este paciente no refirió ninguna alteración tóxica.

En cuanto a los niveles salivares de salicilato, el comportamiento fué similar al de las concentraciones plasmáticas, no sólo por la evolución semejante de las curvas concentración/tiempo, sino también por la gran variabilidad interindividual demostrada, mayor proporcionalmente para las concentraciones salivares (Figs. 21 y 22). También se obtuvieron unos valores mayores, en las concentraciones salivares de salicilato durante la primera parte del intervalo de dosis.

Como cabía esperar de este comportamiento similar entre las concentraciones salivares y las plasmáticas de

salicilato, se obtuvo una buena correlación lineal entre ambas variables (Fig. 26); $r = 0,74$, $p < 0,00001$. Esta correlación permite, por interpolación en la recta de regresión, deducir, a partir del rango plasmático de salicilato considerado eficaz (15-30 mg/100 ml), las concentraciones salivares de AS, que serían eficaces para el tratamiento. En la figura 26 las flechas indican este margen salivar, que para la recta dada, estaría comprendido entre 0,49 y 2,65 mg/ 100ml.

Varios grupos de investigadores ya habían observado esta dependencia entre la C_pAS y la C_pAS_t , con un mayor o menor grado de correlación (132, 135, 136, 137). En los trabajos de Graham y Rowland (132) y en el de Aarons et al (133), en sujetos sanos, el coeficiente de correlación fué mayor de 0,90. Sin embargo, en las investigaciones llevadas a cabo por Pérez-Mateo et al. (136) y Levy et al. (137) en pacientes adultos con AR y en niños con ACJ, respectivamente, se obtuvieron unos coeficientes de regresión algo menores ($r=0,74$ en el primer caso y $r=0,708$ en el segundo).

La determinación indirecta de salicilato a través de la saliva, no sólo es indolora, económica y cómoda sino que además permite estimar la concentración de salicilato libre en plasma (C_pAS_1). Para Levy et al. (137) el grado de correlación entre la C_pAS y la C_pAS_1 es aún mayor que la

existente entre la C_sAS y la C_pAS_t ($r=0,944$, $p<0,001$, frente a $r=0,708$, $p<0,001$)..

Como se comentaba en el apartado 4.1 de la introducción, es el AS libre el que tiene actividad farmacológica y en teoría, sería preferible determinar su concentración plasmática en vez de la C_pAS_t . Pero las dificultades técnicas, el tiempo requerido y el alto costo empleados en su determinación, limitan la determinación de la droga libre, en la monitorización clínica de rutina, a casos concretos: Por ejemplo, en pacientes con hipoalbuminemia, en aquellos con función renal afectada o incluso quienes estén recibiendo concomitantemente una terapia con otras drogas que compitan con el AS en los sitios de unión a las proteínas plasmáticas (91).

Aparte de demostrar una buena correlación entre las concentraciones salivares y plasmáticas de salicilato, es conveniente, para la monitorización indirecta de las concentraciones plasmáticas de AS, que la relación C_sAS/C_pAS_t se mantenga constante entre diferentes sujetos y también en un mismo individuo a lo largo del tiempo. Este cociente se estudió en los trabajos antes mencionados (132, 135, 136), existiendo diferencias entre varios de ellos. Graham y Rowland (132), los primeros en establecer una buena correlación entre la C_sAS y la C_pAS_t , estudiaron 3 sujetos sanos, a los que habían administrado una dosis de aspirina de 650 mg. Extrajeron numerosas muestras de

sangre y de saliva y los valores medios de las relaciones C_pAS/C_sAS_t en los 3 sujetos fueron similares (0,0293, 0,0307 y 0,0394), siendo muy pequeño el coeficiente de variación, en esta relación, en cada uno (rango del coeficiente de variación: 4,4 a 10,9 %).

En el estudio de Aarons et al. (135) en 1977, se utilizó la misma metodología de Graham y Rowland para las determinaciones analíticas (130). Se eligieron 2 voluntarios sanos, a los que se les administró aspirina cada 8 horas desde 300 a 1500 mg, hasta alcanzar el estado de equilibrio. Se valoró la relación C_pAS/C_sAS_t en cada una de las etapas del estudio y dicha relación, en el primer sujeto, varió sólo entre 0,041 y 0,049 y en el segundo entre 0,032 y 0,043.

Los resultados de Pérez-Mateo et al. (136) difieren mucho de los resultados anteriormente comentados. En este trabajo se estudia un grupo de 13 pacientes con A.R. que seguían tratamiento con AAS. A cada paciente se le recogió una muestra de sangre y otra de saliva y la determinación de la C_pAS y de la C_sAS_t se realizó por lectura de la fluorescencia directa. La R_{IES} de la relación C_pAS/C_sAS_t fue de $0,27 \pm 0,04$, con un rango de 0,11 a 0,53, valores 10 veces superiores a los encontrados por Graham y Rowland para el mismo rango de concentraciones.

La investigación de Levy et al. (137), en 1980, analiza estos datos de manera más completa, en un grupo de

niños con ACJ, tratados durante 5 días con AAS, cada 8 horas, a una dosis diaria aproximada de 80 mg/kg. El día 6º de tratamiento, a cada paciente se le extrajeron 4 muestras de sangre y de saliva, a lo largo del intervalo de dosis de 8 horas. El rango de la relación $\overline{C_pAS}/\overline{C_pAS}_t$, en los 10 niños tratados en este estudio y que alcanzaron el estado de equilibrio fué de 0,035 a 0,118, con una $\bar{x} \pm ES$ $0,079 \pm 7,5 \cdot 10^{-3}$, cifras algo más elevadas que las observadas en el presente estudio ($\bar{x} \pm ES = 0,041 \pm 7,8 \cdot 10^{-3}$). Sin embargo, ambos valores concuerdan bastante con los resultados publicados por Graham y Rowland (132) y Aarons et al. (135).

El método de Graham y Rowland (132), el método de Brodie (105) y el método de HPLC, que hemos utilizado en nuestro trabajo, son bastante más específicos que la lectura de la fluorescencia directa que utilizan Pérez-Mateo et al. (135). Posiblemente las diferencias en la metodología puedan explicar las variaciones tan pronunciadas encontradas en la relación C_pAS/C_pAS_t .

Levy et al. (137) estudiaron también la relación entre la C_pAS y la C_pAS_1 (C_pAS/C_pAS_1). Este cociente tuvo una gran variabilidad tanto intra como interindividualmente, con diferencias de hasta un 196% para un mismo paciente. No se mostró en este trabajo la relación C_pAS/C_pAS_t , solo se utilizó la relación $\overline{C_pAS}/\overline{C_pAS}_t$.

Existen otras cuestiones que hay que tener en cuenta en la determinación indirecta de salicilatos: Es conveniente que la relación entre la concentración salivar y plasmática de salicilato sea independiente de la tasa de flujo salivar, independiente del pH salivar y del pH plasmático (o dependiente del pH de manera predecible) e independiente de la C_pAS_t . Roberts et al. (142) demostraron que la relación entre las concentraciones salivar y plasmática de salicilato es independiente de la tasa de flujo salivar, en un amplio margen.

Levy et al. (137) demostraron que la relación $\overline{C_pAS}/\overline{C_pAS_t}$, es dependiente de la C_pAS_t , por tanto, al incrementarse la C_pAS_t también se incrementa el cociente $\overline{C_pAS}/\overline{C_pAS_t}$ ($r=0,597$, $p < 0,05$). Estos autores también observaron una independencia entre la relación $\overline{C_pAS}/\overline{C_pAS_1}$ y la C_pAS_1 ($r=-0,28$, NS). En nuestro estudio se confirmó la dependencia entre la C_pAS_t y la relación C_pAS/C_pAS_t ($r=0,47$, $p<0,00001$).

En el trabajo de Levy et al. (137) se analizó también la influencia de pH salivar sobre la relación C_pAS/C_pAS_1 . Los valores que se obtuvieron en este cociente no se relacionaron con los pH salivares en la manera que propone la teoría de Rasmussen (59), considerando constante el pH plasmático en 7,4 y asumiendo el equilibrio de la droga entre la sangre y la saliva.

Es importante el momento de la medición del pH de la saliva, ya que si se deja la saliva en reposo se vuelve alcalina, por pérdida de dióxido de carbono (128). En la tabla XXIII se comparan los resultados de los pH salivares obtenidos en el estudio de Levy et al. y los obtenidos en el presente trabajo.

Tabla XXIII. Resultados comparativos del pH salivar en el estudio de Levy et al. (137) y en el presente trabajo.

pH en saliva	< 6,5	>6,5 y <7	>7 y<7,5	>7,5 y <8	>8
Levy et al. (N=64)	3 (4,6%)	22 (34%)	20 (31,2%)	16 (25%)	3 (4,6%)
Acitores (N=50)	0 (0%)	7 (14%)	41 (82%)	1 (2%)	1 (2%)

Levy et al. (137) obtuvieron un porcentaje mayor de salivas con un pH salivar mayor de 7,5, probablemente porque no midieron el pH de la saliva inmediatamente que fué vertida, por el paciente en el tubo de ensayo, sino que el pH salivar se midió después de que la muestra fuera extraída del congelador, pudiendo haber perdido dióxido de carbono durante la congelación y descongelación.

En los análisis de regresión, que se realizaron, en el presente estudio, la relación C_{AS}/C_{AS} , fue independiente del pH salivar. Sin embargo, sí dependió del pH

urinario de forma inversa, aunque no con un alto grado de correlación ($r=-0,38$, $p=0,006$), como se muestra en la figura 32. De manera que si aumenta el pH urinario el cociente C_pAS/C_rAS_t disminuye.

Por último, queremos analizar la relación entre el pH en orina y la C_pAS_t . Como se desprende de los resultados ($r=0,29$, N.S.) no ha existido una dependencia entre ambas variables (fig. 29). A primera vista, esto podría resultar una contradicción con la afirmación de Levy y Leonards (77) de que el aclaramiento renal de AS es sumamente sensible al pH urinario, de forma que con orinas alcalinas se elimina más cantidad de esta droga y disminuye la C_pAS_t . Sin embargo, analizando los 50 valores obtenidos de las muestras de orina, se observa que solamente una muestra presentó un pH urinario mayor de 7. Por tanto podemos concluir diciendo que la independencia entre el pH urinario y la C_pAS_t se limita, sólo a los valores de pH obtenidos en las 50 muestras (rango del pH en orina = 5-7,5).

Como resumen de todo lo comentado hasta ahora, la determinación indirecta de AS por medio de la saliva, es una técnica muy cómoda, sobre todo en niños con ACJ. Aunque existe una buena correlación entre la C_pAS y la C_rAS_t , la gran variabilidad observada en la relación C_pAS/C_rAS_t , tanto intra como interindividualmente y la dependencia de este cociente respecto a la C_rAS_t y al pH en orina, hacen

que esta técnica tenga sus limitaciones. No obstante, puede resultar de mucha utilidad en los pacientes en los que la extracción de una muestra de sangre resulte un problema.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

1. Se ha desarrollado un método de HPLC para la determinación de las concentraciones plasmáticas y salivares de AS usando una columna de fase reversa, empaquetada con ODS - 2 (200 x 4,6 mm d.i.), como fase móvil metanol: ácido acético: agua (400:2:98 v/v) y detección a 237 nm. El método ha resultado específico, eficaz, rápido y permite estimar una cantidad límite de analito de 5 ng. El procedimiento de preparación de las muestras ha evitado el sublimado del producto.
2. El grupo de pacientes, diagnosticados de Artritis Crónica Juvenil, fue tratado con idéntica dosis diaria de ácido acetilsalicílico (79,57 mg/kg/día), cada 12 horas. La aplicación del método analítico revela una gran variabilidad en las concentraciones plasmáticas de salicilato total en los diferentes pacientes.
3. El 60% de los pacientes tratados con el régimen de aspirina, antes mencionado, presentaron concentraciones plasmáticas de salicilato total, dentro del margen plasmático considerado terapéuticamente eficaz.
4. La relación entre las concentraciones plasmáticas de salicilato total máxima y mínima fue menor de 1,3, en los pacientes en estado de equilibrio, con salicilemias

mayores de 15 mg/100 ml. No han existido pues grandes fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas, de ácido salicílico total, en el intervalo de 12 horas. Por tanto, el momento de la extracción de la muestra de saliva no resultó crítico en estos pacientes.

5. Se ha encontrado una buena correlación estadística entre las concentraciones salivares de ácido salicílico y las totales plasmáticas ($r=0,74$, $p<0,00001$).
6. La relación C_sAS/C_pAS_t ha mostrado grandes oscilaciones intra e interindividuales. Dicha relación depende directamente de la concentración plasmática de ácido salicílico total, de tal manera que al aumentar esta última, se incrementa linealmente el valor de la razón ($r=0,47$, $p=0,0005$).
7. Existe una relación inversa entre la razón C_sAS/C_pAS_t y el pH urinario, que no puede ser atribuida al azar ($r = -0,38$, $p = 0,006$).
8. A pesar de la buena correlación demostrada entre la concentración salivar de ácido salicílico y la concentración plasmática de ácido salicílico total, la gran variabilidad intra e interindividual en la relación C_sAS/C_pAS_t , la dependencia de esta relación con la con-

centración plasmática de salicilato total y con el pH urinario, limitan el uso del análisis de salicilato en saliva, como método indirecto de análisis clínico. No obstante, la concentración salivar de ácido salicílico puede ser una aproximación práctica a la estimación de la concentración plasmática de salicilato total, en los pacientes en que la extracción de una muestra de sangre no pueda realizarse.

VII. BIBLIOGRAFIA

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. CASADO, E., VALVERDE, F., LOPEZ-IBOR, B., ELOSEGUI, I., MIRANDA, M., VAZQUEZ, L. Tratamiento de la Artritis Reumatoide juvenil. *An Esp Pediatr* 1981; 15:48-52.
2. MOZZICONACCI, P. L'arthrite chronique juvenile à la recherche de son identité. *Ann Pediat* 1983; 30:539-542.
3. BARDARE, M., PIETROGRANDE, M.C., COHEN, E. Clinica, diagnosi e prognosi dell'artrite reumatoide infantile. *Riv Ital Ped* 1981; 7:319-328.
4. SCHALLER, J.G., WEDWOOD, R.J. Enfermedades reumáticas de la infancia. Artritis Reumatoide Juvenil. En: Nelson: *Tratado de Pediatría*. (Behrman R.E., Vaughan V.C, eds). 1985. pp. 584-593. Ed. Interamericana. Madrid.
5. BAUM, J. Epidemiology of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1977; 20 (suppl): 150-160.
6. SULLIVAN, D., CASSIDY, J.T., PETTY, R.E. Pathogenic implications of age of onset in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1975; 18: 251-255.
7. NOGUERA, E. Artritis reumatoidea. *MEDICINE 4º serie*. 1984; 21: 880-898.
8. SALLIERI, D., SEGOND, P., BISSON, M., MASSIAS, P. Evolution à long terme des arthrites chroniques juveniles. *Ann Pediat* 1981; 28: 23-28.
9. HAYEM, F. Artritis Crónica Juvenil: tratamiento. *Tiempos Médicos* 1987; 347: 55-64.

10. SAGESSE, G., BIVER, P. La terapia dell' artrite reumatoide infantile. Riv Ital Ped 1981; 7: 347-375.
11. RODRIGUEZ, A., CRESPO, M., TORRE, J.C. Artritis Crónica Juvenil. Medidas terapéuticas. JANO 1989; 866: 57-60.
12. MULERO, J. Nuevos y novísimos tratamientos de la artritis reumatoidea. Rev Esp Reumatol 1987; 14: 189-196.
13. ROSENBERG, A.M. Advanced drug therapy for juvenile rheumatoid arthritis. J Pediatr 1989; 2: 171-178.
14. SANY, J. Prospects in the immunological treatments of rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatology 1987; 66 (suppl): 129-136.
15. STILLMAN, J.S. Salicylates, a review. Arthritis Rheum 1977; 20: 510-512.
16. ARNAL, M.C. Artritis Crónica Juvenil. MEDICINE 4ª edición 1984; 21: 899-907.
17. CASSIDY, J.T. Treatment of children with juvenile rheumatoid arthritis. N Engl J Med 1986; 314: 1312-1314.
18. Mc CARTHY, D.J., CSUKA, M.E. Aspirin in the treatment of chronic inflammatory arthritis. JAMA 1987; 257:1331.
19. ROTH, S.H. Salicylates revisited. Are they still the hallmark of antiinflammatory therapy? DRUGS 1988; 36: 1-6.

20. MARTIN, E., AGUADO, P., BALSÀ, A. El médico general ante la elección de un antiinflamatorio no esteroideo. JANO 1989; 884: 45-48.
21. NEEDS, C.J., BROOKS, P.M. Clinical pharmacokinetics of the salicylates. Clin Pharmacokinet 1985; 10: 164-177.
22. BUCHANAN, W.W., ROONEY, P.J., RENNIE, J.A. Aspirin and the salicylates. Clin Rheum Dis 1979; 5: 499-540.
23. ARNAU, J.M., COSTA, J., RODRIGUEZ-MORENO, C. Uso clínico de los analgésicos menores. MEDICINE 4ª edición. 1985; 34: 189-195.
24. ARTAZA, M.A., CASTEL, J.M., CUSIDO, E., VIDAL, X., LAPORTE, J.R. ¿Cual de los diversos preparados de AAS es el más adecuado en cada indicación? Un estudio farmacocinético. Med. Clin (Barc) 1988; 90: 283-287.
25. EDGAR, B., BOGENTOF, C., LAGENSTROM, P.O. Comparison of two enteric-coated acetylsalicylic acid preparations by monitoring steady-state levels of salicylic acid and its metabolites in plasma and urine. Biopharm Drug Dispos 1984; 5: 251-260.
26. PLANAS, M.E., JANE, F. Analgésicos no narcóticos. JANO 1983; 564: 62-70.
27. MENTUY, M., CATALA, E., ALIAGA, L., SERRA, R., VILLAR, J.M. Analgésicos menores. Farmacocinética y utilización en el tratamiento del dolor crónico. JANO 1989; 847: 47-53.
28. SHEARN, M.A. Agentes antiinflamatorios no esteroideos; analgésicos no opiáceos. Medicamentos empleados en la gota. En: Farmacología Básica y Clínica. (Kat-

- zung BG, ed.) 1984. pp: 386-403. Ed. El Manual Moderno. México.
29. GIACONA, N.S., DAHL, S.L., HARE, B.D. The role of non steroidal anti-inflammatory drugs and non-narcotics in analgesia. Hospital Formular 1977, 22: 723-735.
 30. LITTER, M. Farmacología de la inflamación. Antiinflamatorios no esteroideos, antipiréticos, analgésicos y otras drogas antiinflamatorias. En: Compendio de Farmacología (Litter M, ed.) 1980. pp. 455-471. Ed. Ate-neo. Barcelona.
 31. MEHLISH, D.R. Review of the comparative analgesic efficacy of salicylate, acetaminophem and pirazolones. Am J Med 1983; 75: 47-52 (21 ref).
 32. AGUADO, P., BALSÀ, A., MARTIN, E. Antiinflamatorios no esteroideos: clasificación. Mecanismos de acción. Farmacocinética. JANO 1989; 878: 53-61.
 33. REHDEERS, K., SIMROCK, R., SPAHN, H., MUTSCHLER, E., BREDDIN, H.K. Plasma salicylates levels and platelet function after acute and chronic administration of slow-release acetylsalicylic acid (Monobeltin). Eur J Clin Pharmacol 1985; 27: 683-687.
 34. FLOWERS, J.R., MONCADA, S., VANE, J. Agentes analgésicos-antipiréticos-antiinflamatorios en el tratamiento de la gota. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica (Goodman A, Goodman LS, Rall TW, Murac F, eds). 1986. pp: 643-669 Ed. Interamericana. México.
 35. DUGGAN, J.M. Gastrointestinal toxicity of minor analgesics. Br J Clin Pharmacol 1980, 10: 407s-410s.

36. DELGADO, A., ARISTEGUE, J., INDIANO, J.M., GARATE, J. Artritis Crónica Juvenil. En: Colagenosis en la Infancia (I) M.P.D. Monografías de Pediatría 1984. pp. 30-67.
37. ATHERYA, B.H. Aspirin-induced hepatotoxicity in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 1975; 347-352.
38. DOUGTHY, R.A., GIESECKE, L., ATHREYA, B.H. Salicylate therapy in Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Am J Dis Child* 1980; 134: 461-463.
39. BAUM, J. Aspirin in the treatment of Juvenile Arthritis. *Am J Med* 1983; 74: 10-15.
40. HOYOUX, C., GEUBELLE, F. La salicylotherapie en pédiatrie. *Rev Med Liege* 1983; 38: 685-689.
41. QUINT, P.A., ALLMAN, F.D. Diferenciación entre el salicilismo crónico y el síndrome de Reye. *Pediatrics* (ed. esp) 1984; 18: 423-425.
42. PROUDFOOT, A.T. Toxicity of salicylates. *Am J Med* 1983; 75: 99-103.
43. MAKELA, A.L., YRJANA, T., MATTILA, M. Dosage of salicylates for children with Juvenil Rheumatoid Arthritis. *Acta Paediatr Scand* 1978; 68: 423-430.
44. CALABRO, J.S., BURNSTEIN, S.L., STALEY, H.L. Letter to the editor. *Scand J Rheumatol* 1976; 5: 251-252.
45. HODGEN, C.A., SCHANKER, L.S., TOCCO, D.I., BRODIE, B.B. Absorption of drugs from the stomach in the human *J Pharmacol Exp ther* 1957; 120: 540-545.

46. BROOKS, P.M., ROBERTS, M.S., PATEL, B. Pharmacokinetics of sustained release aspirin. *Br J Clin Pharmacol* 1978; 5: 337-339.
47. SWEENEY, B.R., HOAG, S.G., MILLER, D.R., BORGE, A. Effect of food on absorption of salicylate from salicylate capsules. *Clin Pharm* 1982; 1: 161-163.
48. ROWLAND, M., RIEGELMAN, S., HARRIS, P.A.; SHOLKOFF, S.D. Absorption kinetics of aspirin in man following oral administration of an aqueous solution. *J Pharm Sci* 1972; 61: 379-385.
49. GRAHAM, G.G., CHAMPION, G.D., DAY, R.O., PAULL, P.D. Patterns of plasma concentrations and urinary excretion of salicylate in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol Ther* 1977; 22: 410-420.
50. LEVY, G., YAFFE, S.J. Relationship between dose and apparent volume of distribution of salicylate in children. *Pediatrics* 1974; 54: 713-717.
51. WILSON, J.T., BROWN, R.D., BOCHINI, J.A., KEARNS, G.L. Efficacy, disposition and pharmacodynamics of aspirin, acetaminophen and choline salicylate in young febrile children. *Ther Drug Monit* 1982; 4: 147-180.
52. WANWIMOLRUK, S., BIRKETT, D.J. BROOKS PM. Protein binding of some non-steroidal antiinflammatory drugs in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacokinet* 1982; 7: 85-92.
53. EKSTRAND, R., ALVAN, G., BORGA, O. Concentration dependent plasma protein binding of salicylate in rheumatoid patients. *Clin Pharmacokinetic* 1979; 4: 137-143.

54. SOREN, A. Kinetics of salicylates in blood and joint fluid. *Eur J. Clin Pharmacol* 1979; 16: 279-285.
55. GOLDBERG, M.A., BANLOW, C.F., ROTH, L.J. The effects of carbondioxide on the entry and accumulation of drugs in the central nervous system. *J. Pharmacol Exp Ther* 1961; 131: 308-318.
56. GARRETTSON, K.K., PROCKNALL, J.A., LEVY, G. Fetal adquisition and neonatal elimination of a large amount of salicylate. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 17: 98-103.
57. FINDLAY, J.W., DE ANGELIS, R.L., KEARNEY, M.F., WELCH, R.M., FINDLAY, J.M. Analgesic drugs in breast milk and plasma. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29: 625-633.
58. UNSWORTH, J., d'ASSIS-FONSECA, A., BESWICK, D.T. Serum salicylate levels in a breast fed infant. *Ann Rheum Dis* 1987; 46: 638-639.
59. RASMUSSEN, F. Salivary excretion of sulphonamides and barbiturates by cows and goats. *Acta Pharmacol Toxicol* 1964; 21: 11-19.
60. KILLMAN, S.A., THAYSEN, J.H. The permeability of the human parotid gland to a series of sulfonamide compounds, paraaminohippurate and inulin. *Scand J. Clin Lab Invest* 1955; 1: 86-91.
61. MANDEL, I.W. Relation of saliva and plaque to caries. *J. Dent Res* 1974; 53: 246-266.
62. NISHIHARA, K., UCHINO, K., SAITOH, Y., HONDAY, Y., NAKAGAWA, F., TAMURA, Z. Estimation of plasma unbound

phenobarbital concentration by using mixed saliva. *Epilepsia* 1979; 20: 37-45.

63. MATIN, S.B., WAN, S.H., KARAM, J.H. Pharmacokinetics of tolbutamide: Prediction by concentrations in saliva. *Clin Pharmacol Ther* 1974; 16: 1052-1058.
64. DANHOF, M., BREIMER, D.D. Therapeutic drug monitoring in saliva. *Clin Pharmacokin* 1978; 3: 39-57.
65. DVORCHIK, B.H., VESELL, E.S. Pharmacokinetics interpretation of data gathered during therapeutic drug monitoring. *Clin Chem* 1976; 22: 868-878.
66. ROWLAND, M. Factores hemodinámicos en farmacocinética Triángulo 1975; 14: 109-116.
67. RAINSFORD, K.D., SCHWEITZER, A., BRUNE, K. Distribution of acetyl compared to salicylic moiety of acetyl-salicylic acid. *Biochem Pharmacol* 1983; 32:1307-1308.
68. LEVY, G., TSUCHIYA, T. Salicylate accumulation kinetics in man. *N. Engl J. Med* 1972; 287: 430-432.
69. WILSON, J.T., HOWELL, R.L., HOLLADAY, M.W., BRILLIS, G.M., CHRASTIL, J., WATSON, J.T., TABER, D.F. Gentisuric acid: Metabolic formation in animals and identification as a metabolite of aspirin in man. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23: 635-643.
70. TRNAVSKA, Z., TRNAVSKY, K. Sex differences in the pharmacokinetics of salicylates. *Eur J. Clin Pharmacol* 1983; 25: 679-682.
71. LEVY, G. Pharmacokinetics of salicylate elimination in man. *J. Pharm Sci* 1965; 54: 959-967.

72. LEVY, G. Pharmacokinetics of salicylate in man. *Drug Metab Rev* 1979; 9: 3-19.
73. LEVY, G., TSUCHIYA, T., AMSEL, L.P. Limited capacity of salicylicphenolic glucuronide formation and its effects on the kinetics of salicylate elimination in man. *Clin Pharmacol Ther* 1972; 13: 258-268.
74. TSUCHIYA, T., LEVY, G. Biotransformation of salicylic acid and its acyl and phenolic glucuronides in man. *J. Pharm Sci* 1972; 61: 800-801.
75. BOCHNER, F., GRAHAM, E.G., CHAM, B.E., IMHOFF, D.M., HAAVISTO, T.M. Salicylate metabolite kinetics after several salicylates. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30: 266-275.
76. BORENHAM, D.R., MARTIN, B.K. The kinetics of elimination of salicylic acid and formation of gentisic acid. *Br. J. Pharmacol* 1969; 37: 294-297.
77. LEVY, G., LEONARDS, J.R. Urine pH and salicylate therapy. *JAMA* 1971; 217: 81.
78. FARRE, M., SALVA, P. Monitorización de niveles plasmáticos de fármacos. *MEDICINE* 4ª edición. 1985; 28: 145-158.
79. CASADO, E. Artritis Crónica Juvenil. En: *Tratado de Pediatría* (Cruz M., ed.) 1988. pp: 1814-1823. Ed. Ex-paxs SA. Barcelona.
80. BARDARE, M., CISLAGHI, G.U., MANDELLI, M., SERENI, F. Value of monitoring plasma salicylate levels in treating juvenile rheumatoid arthritis. *Arch Dis Child* 1978; 53: 381-385.

81. PAULUS, H.E., SIEGEL, H., MONGAN, E., OKUN, R., CALABRO, J.J. Variations of serum concentrations and half-life of salicylate in patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthr Rheum* 1971; 14: 527-532.
82. CASSELL, S., FURST, D., DROMGOOLE, S., PAULUS, H.E. Steady-State serum salicylate levels in hospitalized patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 1979; 22: 384-388.
83. TUGWELL, P., HART, L., KRAAG, G., PARK, A., DOK, C., BIANCHI, F., GOLDSMITH, C., BUCHANAN, W. Controlled trial of clinical utility of serum salicylate monitoring in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol* 1984; 11: 457-461.
84. ALLEN, J.M., THAKKER, K.M., SMALL, R.E., WOOD, J.H., WILLIS, H.E. Steady-state salicylate plasma and urinary metabolite concentrations from plain, buffered or enteric-coated aspirin. *Clin Pharm* 1983; 2: 64-66.
85. LEVY, G. Clinical pharmacokinetics of aspirin. *Pediatrics* 1978; 62 (suppl): 867-872.
86. TSUCHIYA, T., LEVY, G. Relationship between dose and plateau levels of drugs eliminated by parallel first order and capacity limited kinetics. *J. Pharm Sci* 1972; 61: 541-544.
87. MILLER, R.R. Deafness due to plain and long-acting aspirin tablets. *J. Clin Pharmacol* 1978; 18: 468-471.
88. LEVY, G., GIACOMINI, K.M. Rational aspirin dosage regimens. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23: 247-252.
89. BENSEN, W.G., LASKIN, C.A., PATON, T.W., LITTLE, H.A., FAN, A.G. Twice-daily dosing of enteric-coated

- aspirin in patients with rheumatic diseases. *J. Rheumat* 1979; 6: 351-356.
90. BUTLER, C.D., STRAUGHN, A.B. Serum salicylate concentrations after aspirin administration at 6 or 12 hours intervals. *Clin Pharm* 1982; 1: 458-460.
 91. PACHMAN, L.M., OLUFS, R., PROCKNAL, J.A., LEVY, G. Pharmacokinetic monitoring of salicylate therapy in children with Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Arthr Rheum* 1979; 22: 826-831.
 92. KVEIN, T.K., OLSSON, B., HØYERAL, H.M. Acetylsalicylic acid and Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Acta Paediatr Scand* 1985; 74: 755-759.
 93. MULLER, F.O., HUNDT, H.K., KOCH, A.C. Decreased steady-state salicylic acid plasma levels associated with chronic aspirin ingestion. *Curr Med Res Opin* 1975; 3: 417-422.
 94. DAY, R.O., DROMGOOLE, S.H., FURST, D.E., HIGNITE, C., PAULUS, H.E. Formation of methylester of salicylic acid during quantitation of salicylic acid in urine by high pressure liquid chromatography. *J. Pharm Sci* 1981; 70: 1090-1092.
 95. GÜNSBERG, M., BOCHNER, F., GRAHAM, G., IMHOFF, D., PARSONS, G., THY, B.S., CHAMP, B. Disposition of and clinical response to salicylates in patients with rheumatoid disease. *Clin Pharmacol Ther* 1984; 35: 585-593.
 96. LEVY, G., LAMPMAN, T., KAMATH, B.L. Decreased serum salicylate concentrations in children with rheumatic fever treated with antacid, *N. Engl J. Med* 1975; 293: 323-325.

97. HASTEN, P.D., HAYTON, W.L. Effect of antacid and ascorbic acid on serum salicylate concentrations. *J. Clin Pharmacol* 1980; 20: 326-331.
98. LEVY, G. Clinical pharmacokinetics of salicylates: a re-assessment. *Br. J. Clin Pharmac* 1980; 10: 285-290.
99. GURWICH, E.L., RAEES, S.M., SKOSEY, J., NIAZI, S. Unbound plasma salicylate concentration in rheumatoid arthritis patients. *Br. J. Rheumatol* 1984; 23: 66-73.
100. HERNANDEZ, J., GONZALEZ-SICILIA, L. Ajuste de la dosis como ciencia y como arte. *MEDICINE 4ª edición*. 1985; 28: 159-160.
101. PEÑA, J. Farmacología pediátrica. En: *Tratado de Pediatría* (Cruz M, ed). 1988.pp: 1947-1954. Ed. Expaxs SA. Barcelona.
102. TRINDER, P. Rapid determination of salicylate in biological fluids. *Biochem J.* 1954; 57: 301-303.
103. KELLER, W.J. A rapid method for the determination of salicylates in serum or plasma. *Am J Clin Pathol* 1947; 17: 415-417.
104. JARVIE, D.R., HEYWORTH, R., SIMPSON, D. Plasma salicylate analysis: a comparison of colorimetric, HPLC and enzymatic techniques. *Ann Clin Biochem* 1987; 24: 364-373.
105. BRODIE, B.B., UDENFRIEND, S., COBURN, A. The determination of salicylic acid in plasma. *J. Pharmacol Exp Ther* 1944; 80: 114-117.

106. YAMAMOTO, S., KATAGIRI, M., MAENO, H., HAYAISHI, O. Salicylate hydroxylase, a monooxygenase requiring flavin adenine dinucleotide. I. Purification and general properties. *J. Biol Chem* 1965; 240: 3408-3413.
107. YOU, X., BITTIKOFER, J.A. Quantification of salicylate in serum by use of salicylate hydroxylase. *Clin Chem* 1984; 30: 1549-1551.
108. LONGENECKER, R.W., TRAFTON, J.E., EDWARDS, R.B. A tableted enzymic reagent for salicylate, for use in a discrete multiwavelength analytical system (Paramax²). *Clin Chem* 1984; 30: 1369-1371.
109. CHUBB, S.A., CAMBELL, R.S., RAMSAY, J.R., HAMMONA, P.M., ATKINSON, T., PRICE, C.P. An enzyme mediated, colorimetric method for the measurement of salicylate. *Clin Chim Acta* 1986; 155: 209-220.
110. VELASCO, A. Farmacometría. En: Farmacología y su Proyección a la clínica. (Lorenzo Velázquez B., ed). 1979.pp: 95-103. Ed. Oteo. Madrid.
111. SALTZMAN, A. Fluorophotometric method for the estimation of salicylate in blood. *J. Biol Chem* 1948; 174: 399,404.
112. ØIE, S., FRISLID, K. A fluorimetric method for direct determination of total salicylate in plasma. *Pharm Acta Helv* 1971; 46: 632-636.
113. WALTER, L.J., BIGGS, D.F., COUTTS, R.T. Simultaneous GLC estimation of salicylic acid and aspirin in plasma. *J. Pharm Sci* 1974; 63: 1754-1758.
114. YOST, R.W., ETTRE, L.S., CONLON, R.D. Introducción y panorámica. En: Introducción a la Cromatología líquida-

da práctica (Yost RW, Ettre LS y Conlon RD, eds). 1980.pp: 3-30. Ed. Perkin-Elmer. Norwalk. (USA).

115. BAUM, R.G., CANTWELL, F.F. Determination of salicylic acid and aspirin in multicomponent tablets by liquid chromatography on a nonionic resin. J. Pharm Sci 1978; 67: 1066-1069.
116. WILLIAMS, K.J., LIWIAN P.A., IRWIN, W.T. Sample-solvent induced peak broadening in the reversed-phase high performance liquid chromatography of aspirin and related analgesics. J Chromatogr 1980; 194: 217-233.
117. PENG, G.W., GABALLA, M.A., SMITH, V., PENG, A., CHIOU, W.L. Simple and rapid high pressure liquid chromatographic simultaneous determination of aspirin, salicylic acid and salicylic acid in plasma. J Pharm Sci 1978; 67: 710-712.
118. LO, L.Y., BYE, A. Specific and sensitive method for the determination of aspirin and salicylic acid in plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr 1980; 181: 473-477.
119. DOUIDAR, S.M., AHMED, A.E. Studies of simultaneous determination of acetaminophen, salicylic acid and salicylic acid in biological fluids by high performance liquid chromatography. J. Clin Chem Clin Biochem 1982; 20: 791-798.
120. NIEDER, M., JAEGER, H. Determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in blood and plasma by HPLC. J. High Resolut Chromatogr Chromatogr Commun 1983; 6: 655-660.
121. BRANDOM, R.A., EADIE, M.J., SMITH, M.T. A sensitive liquid chromatographic assay for plasma aspirin and

- salicylate concentrations after low doses of aspirin. *Ther Drug Monit* 1985; 7: 216-221.
122. CHUBB, S.A., CAMPBELL, R.S., PRICE, C.P. Rapid method of measuring salicylate in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1986; 380: 163-169.
123. GASPARI, F., LOCATELLI, M. Determination of aspirin and salicylic acid in uremic patients's plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Ther Drug Monit* 1987; 9: 243-247.
124. ROWLAND, M., RIEGELMAN, S. Determination of acetylsalicylic acid in plasma. *J. Pharm Sci* 1967; 56: 717-720.
125. RUMBLE, R.H., ROBERTS, M.S., WANWIMOLRUK, S. Determination of aspirin and its major metabolites by high performance liquid chromatography with solvent extraction. *J. Chromatogr* 1981; 225: 252-260.
126. RICHENS, A. Clinical pharmacokinetics of phenytoin. *Clin Pharmacokinet* 1979; 4: 153-169.
127. PAXTON, J.W., DONALD, R.A. Concentrations and Kinetics of carbamazepine in whole saliva, parotid saliva, serum ultrafiltrate and serum. *Clin Pharmacol Ther* 1980; 28: 695-702.
128. TERRÓN, F.J. Niveles salivares de fármacos. Empleo y utilidad clínica. Tesina de Licenciatura. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. 1986.
129. BORZELLECA, J.F., DOYLE, C.H. Excretion of drugs in saliva. Salicylate, barbiturate, sulfonilamide. *J. Oral Ther Pharmacol* 1966; 3: 104-111.

130. BORZELLECA, J.F., PUTNEY, J.W. A model for the movement of salicylate across the parotid epithelium. *J Pharmacol Exp Ther* 1970; 174: 527-534.
131. KILLMAN, S.A., THAYSEN, J.H. The permeability of the human parotid gland to a series of sulfonamide compounds, paraaminohippurate and inulinin. *Scand J Clin Lab Invest* 1955; 7: 86-91.
132. GRAHAM, G.G., ROWLAND, M. Application of salivary salicylate data to biopharmaceutical studies of salicylates. *J Pharm Sci* 1972; 61: 1219-1222.
133. PAGE, M.A., ANDERSON, R.A., BROWN, K.F. The availability of sodium salicylate from enteric coated tablets. *Aust J Pharm Sci NS* 1974; 3: 95-98.
134. PAULL, P., DAY, R., GRAHAM, G., CHAMPION, D. Single dose evaluation of a new enteric-coated aspirin preparation. *Med J Austr* 1976; 1: 617-619.
135. AARONS, L.J., BOCHNER, F., ROWLAND, M. A chronic dose-ranging kinetic study of salicylate in man. *Br J Pharmacol* 1977; 61: 456-457.
136. PEREZ-MATEO, M., ERILL, S., CABEZAS, R. Blood and saliva salicylate therapy. *Int J Clin Pharmacol* 1977; 15: 113-115.
137. LEVY, G., PROCKNALL, J.A., OLUFS, R., PACHMAN, L.M. Relationship between saliva salicylate concentration and free or total salicylate concentration in serum of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol Ther* 1980; 27: 619-627.

138. MARTIN, A., LUNA, J.D. Regresión lineal En: Bioestadística para las Ciencias de la Salud. (Martín A y Luna J.D., eds). 1989. pp 447-479. Ed. Norma SA. Madrid.
139. CHAM, B.E., JOHNS, D., BOCHNER, F., IMHOFF, D.M., ROWLAND, M. Simultaneous liquid chromatographic quantitation of salicylic acid, salicyluric acid and gentisic acid in plasma. Clin Chem 1979; 25: 1420-1425.
140. RUMBLE, R.H., ROBERTS, M.S. Determination of aspirin and its major metabolites in plasma by high-performance liquid chromatography without solvent extraction. J Chromatogr 1981; 225: 252-260.
141. MASON, D., GILLILAN, R. Revised method for determination of aspirin and salicylic acid in human plasma by high pressure liquid chromatography. Anal Letters 1988; 16: 903-912.
142. ROBERTS, M.S., RUMBLE, R.H., BROOKS, P.M. Salivary salicylate secretion and flow rate. Br J Clin Pharm 1978; 6: 429.