

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

HOSPITAL DEL AIRE

**CONTRIBUCIÓN DE LA
FARMACOCINÉTICA DE LA
CAFEÍNA AL ESTUDIO DE LA FUNCIÓN
HEPÁTICA EN LA CIRROSIS**

Antonio Aguilar Ros

Septiembre 1.992

Memoria presentada por el Licenciado
D. Antonio Aguilar Ros, para optar al
grado de Doctor en Farmacia

Madrid, 21 de septiembre de 1992



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
SECCION DEPARTAMENTAL
DE FISILOGIA ANIMAL

D^a. ROCIO MUÑOZ CALVO, DIRECTORA DE LA SECCION DEPARTAMENTAL DE FISILOGIA ANIMAL DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

C E R T I F I C A: Que el licenciado en Farmacia D. Antonio Aguilar Ros ha realizado bajo mi dirección conjunta y supervisión el trabajo que presenta como Tesis Doctoral: "Contribución del estudio farmacocinético de la cafeína a la valoración de la función hepática en la cirrosis".

Garantizo las técnicas empleadas así como los resultados.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Madrid a veintidos de Septiembre de mil novecientos noventa y dos.





UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL DEL AIRE
Arturo Soria, 82
28028 MADRID

D. JUAN MIGUEL DÍAZ LOBÓN, PROFESOR ASOCIADO DE CIENCIAS DE LA SALUD, DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE, Y PERTENECIENTE AL SERVICIO DE APARATO DIGESTIVO DEL HOSPITAL DEL AIRE DE MADRID

CERTIFICO:

Que la presente Tesis Doctoral titulada: "**Contribución del estudio farmacocinético de la cafeína a la valoración de la función hepática en la cirrosis**", ha sido realizada bajo mi dirección conjunta en el Servicio de Farmacia del Hospital del Aire de Madrid por el Licenciado en Farmacia **D. Antonio Aguilar Ros**, reuniendo los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente certificado en Madrid a veintidos de septiembre de mil novecientos noventa y dos



AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. D. Juan Miguel Díaz Lobón, por ser mi maestro y amigo
- A la Profesora D^a Rocío Muñoz Calvo, por su constante estímulo y supervisión
- A D. Eloy Sánchez, diplomando de la Especialidad de Aparato Digestivo, por su ayuda desinteresada
- A la Dirección del Hospital del Aire, por la confianza que nos ha concedido, facilitando los medios necesarios para la realización de esta investigación
- A la Comisión de seguimiento de tesis y tesinas del Hospital del Aire, por sus indicaciones, consejos y seguimiento del presente trabajo
- A los Servicios de Aparato Digestivo del Hospital del Aire y del Hospital Provincial de Madrid, por su ayuda y colaboración
- A las monjas y enfermeras del Hospital del Aire, por su entrega y dedicación
- Al Dr. D. David Martínez Hernández, por su ayuda y consejos en las aplicaciones estadísticas
- Al Dr. D. Mario González Alfonso, por sus indicaciones y supervisión.
- Al Profesor D. José Martínez Lanao, por sus consejos, enseñanzas y la provisión de programas informáticos
- A la Dra. D^a Cecilia Pérez-Soba Aguilar, por su ayuda y colaboración
- A mis compañeros del Servicio de Farmacia y a las alumnas de Prácticas Tuteladas

- Y muy especialmente:

- A los pacientes cirróticos que aceptaron añadir una molestia más a su penosa enfermedad y a mis amigos y compañeros que se ofrecieron como controles para el presente estudio.

A Teresa

A mis padres

ÍNDICE

I)	INTRODUCCIÓN	1
II)	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
II.1	Cirrosis hepática	7
II.1.1	Historia y aspectos conceptuales	7
II.1.2	Etiología	9
II.1.2.1	Alcohol	10
II.1.2.2	Hepatitis virales	11
II.1.2.3	Otros factores	12
II.1.3	Aspectos morfológicos	13
II.1.3.1	Alteraciones macroscópicas	13
II.1.3.2	Alteraciones microscópicas	14
II.1.4	Diagnóstico	16
II.1.4.1	Pruebas analíticas	16
II.1.4.2	Otras pruebas diagnósticas	17
II.1.5	Pronóstico	19
II.2	Aspectos generales sobre la evaluación de la función hepática	23
II.2.1	Pruebas útiles en la valoración diagnóstica habitual	24
II.2.1.1	Albúmina sérica	24
II.2.1.2	Factores de coagulación	24
II.2.1.2	Gammaglobulinas	25
II.2.1.4	Bilirrubina	25
II.2.1.5	Enzimas séricas	27
II.2.1.5.1	Transaminasas	27
II.2.1.5.2	Grupo de la fosfatasa alcalina	28
II.2.2	Los xenobióticos como indicadores de la función hepática	29
II.2.2.1	Aspectos generales	29
II.2.2.2	Xenobióticos con bajo aclaramiento intrínseco	30
II.2.2.2.1	Antipirina	31
II.2.2.2.2	Aminopirina	31
II.2.2.2.3	Otros	32
II.2.2.3	Xenobióticos con alto aclaramiento intrínseco	32
II.2.2.3.1	Verde de indocianina	33

II.2.2.3.2	Otros	33
II.2.2.4	Parámetros farmacocinéticos	34
II.2.2.4.1	Aclaramiento	34
II.2.2.4.1.1	Aclaramiento hepático	34
	a) Flujo sanguíneo hepático	36
	b) Unión a proteínas plasmáticas	39
	c) Eliminación intrahepática:	
	Biotransformación	42
II.2.2.4.2	Vida media y volumen aparente de distribución	47
II.3	Cafeína	52
II.3.1	Origen	52
II.3.2	Características físico-químicas	53
II.3.3	Identificación	54
II.3.4	Valoración	55
II.3.5	Métodos de determinación	55
II.3.5.1	Enzimoimmunoanálisis	56
II.3.5.2	Cromatografía de gases	56
II.3.5.3	Cromatografía líquida de alta resolución	56
II.3.6	Farmacocinética	58
II.3.6.1	Absorción	58
II.3.6.2	Distribución	59
II.3.6.3	Eliminación	59
II.3.7	La cafeína como prueba de función hepática	66
III)	MATERIAL Y MÉTODOS	71
III.1	Grupos del estudio. Criterios de inclusión/exclusión	72
III.2	Material	75
III.2.1	Instrumental y utillaje	75
III.2.2	Productos químicos y reactivos	77
III.3	Métodos	77
III.3.1	Exploración clínica y analítica	77
III.3.2	Dosificación de las cápsulas	78
III.3.3	Administración de la cafeína y obtención de las muestras	80

III.3.4	Técnica analítica de determinación de la cafeína	81
III.3.4.1	Patrones de calibración	81
III.3.4.2	Muestras de control de calidad	81
III.3.4.3	Muestras problema	82
III.3.4.4	Procedimiento. Condiciones experimentales	82
III.3.4.5	Procedimiento de validación de la técnica	83
III.3.5	Tratamiento Farmacocinético	84
III.3.6	Tratamiento Estadístico	90
IV)	RESULTADOS	91
IV.1	Técnica analítica	92
IV.2	Datos clínicos y analíticos de los pacientes	105
IV.3	Parámetros y modelo farmacocinéticos de la cafeína	107
IV.4	Influencia de varios factores sobre el ajuste de los valores experimentales a un modelo farmacocinético determinado	131
IV.5	Influencia del consumo de tabaco, café y alcohol sobre el aclaramiento y la vida media de la cafeína	133
IV.6	Comparación y relación entre los parámetros farmacocinéticos del suero con los de la saliva en la cirrosis	136
IV.7	Estimación del aclaramiento y vida media a partir de dos únicas muestras	138
IV.8	La cafeína como prueba de función hepática en la cirrosis	147
IV.8.1	Comparación entre los parámetros farmacocinéticos de los tres grupos	147
IV.8.2	Relación entre los datos analíticos (bilirrubina, albúmina y tasa de protrombina) y la puntuación de Child con el aclaramiento y vida media de la cafeína	153
IV.8.3	Comparación de las concentraciones de cafeína -halladas en los tiempos 6, 12, 24 y 48 horas-	

	entre los distintos grupos	157
IV.8.5	Relación entre la puntuación Child y las concentraciones de cafeína (24 y 48 horas) en pacientes cirróticos. Utilidad de las concentraciones C-24 y C-48 de cafeína como prueba diagnóstica	160
V)	DISCUSIÓN	166
V.1	Técnica analítica	167
V.2	Modelo farmacocinético de la cafeína	168
V.3	Efecto de varios factores (tabaco, café y alcohol) sobre los parámetros farmacocinéticos de la cafeína	171
V.4	Parámetros farmacocinéticos de cafeína en saliva	172
V.5	Cálculo de los parámetros farmacocinéticos (Cl y $t_{1/2}$) de la cafeína con dos muestras de suero o de saliva	174
V.6	La cafeína como prueba de función hepática en la cirrosis	176
V.6.1	Parámetros farmacocinéticos de la cafeína	176
	A) Diferencias entre los distintos grupos	177
	B) Correlación del Cl y $t_{1/2}$ con la puntuación de Child, albúmina, bilirrubina y tasa de protrombina	179
	C) Utilidad de los parámetros farmacocinéticos de la cafeína	180
V.6.2	Utilidad de las concentraciones de cafeína obtenidas a las 6, 12, 24 y 48 horas	181
VI)	CONCLUSIONES	184
VII)	BIBLIOGRAFÍA	187

I) INTRODUCCIÓN

La cirrosis hepática es una enfermedad del hígado que corresponde a la fase terminal de una serie de procesos que tienen antes una historia natural con frecuencia larga y diversa en su etiología y manifestaciones clínicas y analíticas.

En relación con las manifestaciones analíticas, ninguna de las pruebas de función hepática propuestas sirve para medir la función hepática global, ni tampoco para diagnosticar por sí sola una enfermedad hepática.

Las pruebas de función hepática deben cumplir los siguientes requisitos ideales:

- Deben ser sensibles, es decir, indicar si el paciente padece o no una enfermedad hepática, aún cuando ésta sea leve.

- Deben ser específicas, es decir útiles para establecer un diagnóstico diferencial. Es importante señalar que cuanto más sensible es una prueba, menos específica resulta, por lo que puede inducir a error.

- Deben indicar la extensión de la enfermedad, así como su posible evolución.

- Deben ser sencillas en su realización y baratas en su costo.

Hasta la actualidad no ha sido posible encontrar una prueba ideal de función hepática (Chopra, 1985). El término "pruebas de función hepática" se refiere generalmente a un grupo de pruebas bioquímicas que miden varios aspectos de la función hepática como por ejemplo: concentración sérica de bilirrubina, actividad enzimática en suero de fosfatasa alcalina, aminotransferasas, etc. Estas pruebas se usan a menudo para descartar la presencia de una patología hepática, pero es importante resaltar que incluso con valores normales de las mismas no podemos descartar una importante hepatopatía. Por ejemplo, hasta un veinte por ciento de pacientes con cirrosis hepática compensada pueden presentar todos los valores bioquímicos normales o casi normales (Escartín, 1990). Por eso, en la práctica, se requieren estudios complementarios del hígado mediante métodos invasivos -laparoscopia, biopsia hepática, colangiografía retrógrada- o mediante técnicas de imagen -ecografía, tomografía axial computarizada, etc.-

Con fines prácticos, las pruebas de laboratorio de función hepática pueden dividirse en dos

grupos:

En primer lugar están las que se usan en la valoración diagnóstica habitual: concentración sérica de proteínas -albúmina- y de factores de coagulación -I, II, V, VII, VIII, XIII-, concentración sérica de bilirrubina, amonio, actividades enzimáticas en suero de diversas enzimas (fosfatasa alcalina, gamma-glutamyl transferasa, aminotransferasas, 5'-nucleotidasa y dehidrogenasas).

Por otro lado tenemos los parámetros de metabolismo, capacidad de eliminación o función cuantitativa hepática: El metabolismo de fármacos es una importante función fisiológica del hígado. Ciertos xenobióticos o fármacos como la aminopirina o la antipirina se han usado para medir la capacidad funcional del hígado. Este segundo grupo de pruebas tiene la ventaja, frente a los anteriores, de su elevada especificidad para detectar una enfermedad hepática, además de ayudar a cuantificar la respuesta a fármacos que se metabolizan por la misma vía que el xenobiótico estudiado.

Para medir cuantitativamente la función hepática a partir de la velocidad con que el hígado elimina los xenobióticos de la sangre o suero, se asume que el proceso responsable de la eliminación varía en función de los cambios producidos por la lesión hepática y que, idealmente, estas variaciones son proporcionales a la masa celular funcional hepática.

Los xenobióticos usados en clínica para medir la función hepática pueden pertenecer a dos grupos:

Los de alta extracción hepática, que se caracterizan por presentar un elevado aclaramiento intrínseco. Los xenobióticos de este grupo se utilizan para valorar el flujo sanguíneo hepático, ya que su aclaramiento está condicionado por el mismo. Diversas sustancias se han utilizado con este fin: Bromosulfaleína, Verde de indocianina, Rosa de Bengala, Propranolol, Microagregados de albúmina y Lidocaína.

Los de baja extracción hepática son una serie de xenobióticos que presentan un bajo aclaramiento intrínseco. Su velocidad de eliminación no depende del flujo sanguíneo del

hígado sino de la capacidad metabólica del mismo. Varias sustancias se han valorado para cuantificar la masa funcional hepática: Aminopirina, Fenacetina, Antipirina, Diazepam, Clordizepóxido y Ciclobarbitol.

En general, el empleo de estos fármacos y xenobióticos para medir la función hepática no está exento de problemas: Puede estar asociado con reacciones de hipersensibilidad, es relativamente complicado de llevar a cabo, suele tener alto costo y es, con frecuencia, incómodo para los pacientes.

Recientemente, la cafeína ha llamado la atención de varios investigadores, habiendo sido propuesta como una sustancia ideal o casi ideal para medir cuantitativamente la función hepática. Al presentar un bajo aclaramiento intrínseco sus constantes farmacocinéticas pueden servir para medir la capacidad metabólica del hígado.

Para la realización del presente trabajo, en función de lo expuesto, elegimos la cafeína para valorar si su estudio farmacocinético podría aportar algo al estudio de la cirrosis hepática.

Entre otras ventajas, la cafeína cumple todos los requisitos propuestos por Branch (1982), para poder emplear una sustancia como prueba cuantitativa de función hepática:

-No debe ser tóxica ni en sujetos normales ni en pacientes con enfermedad hepática (en nuestro trabajo, cirrosis).

-Debe ser eliminada predominantemente o exclusivamente por el hígado.

-Su velocidad de eliminación debe variar con la enfermedad hepática.

-Debe ser posible su administración intravenosa o la administración oral; en este último caso, su absorción ha de ser completa y rápida.

-Debe ser posible su cuantificación o la de sus metabolitos en plasma, saliva, orina o aire espirado.

En relación a la antipirina, el xenobiótico más comúnmente usado hasta ahora como prueba de función hepática, la cafeína presenta las ventajas de su menor vida media -lo que

facilita la realización de la prueba- y de su menor toxicidad -lo que aumenta la seguridad de la misma.

HIPÓTESIS

-1ª) Dado que la cirrosis hepática es una hepatopatía evolucionada que supone una disminución en la masa funcional hepática -difícil de valorar en sus estadios compensados por las pruebas analíticas habituales- es posible que el estudio farmacocinético de la cafeína nos permita diferenciar entre sujetos sanos y pacientes cirróticos, y que incluso tenga algún valor para definir el pronóstico o la evolución de la cirrosis hepática.

OBJETIVOS

Como consecuencia de la hipótesis mencionada, nos planteamos los siguientes objetivos para la realización del presente trabajo:

-1º) Comprobar si las constantes farmacocinéticas de eliminación de la cafeína -aclaramiento y vida media- permiten diferenciar, en nuestra población, sujetos sanos de pacientes con cirrosis hepática.

-2º) Estudiar si la prueba de la cafeína tiene valor como indicador del pronóstico o de la evolución de la cirrosis hepática.

-3º) Comprobar si la saliva puede sustituir al suero para la obtención de los parámetros farmacocinéticos de la cafeína, en los pacientes cirróticos.

-4º) Con fines prácticos, tratar de simplificar el método de determinación del aclaramiento y la vida media de la cafeína, mediante una o dos muestras de sangre o saliva, con una técnica analítica sencilla.

-5º) Un objetivo posterior fue valorar la utilidad de una sola determinación de la concentración sérica de cafeína, como ayuda al diagnóstico de la cirrosis hepática.

II) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1 CIRROSIS HEPÁTICA

II.1.1 HISTORIA Y ASPECTOS CONCEPTUALES

El término cirrosis fue propuesto por Laennec a principios del siglo pasado para definir ciertas características morfológicas, sobre todo el color amarillento (en griego, KIRROS) que tenían los hígados de las personas que fallecían de cirrosis. Otra característica muy peculiar de estos hígados, su endurecimiento ya había sido señalada en el siglo II antes de Cristo por Aretio, médico de Capadocia, que describió la inflamación del hígado como una condición que podía conducir al endurecimiento (en latín, ESCIRROS). Fonéticamente, en las lenguas grecolatinas, ambos términos se parecen y además son breves; de aquí su gran éxito a pesar de su imprecisión.

Por tanto, el primer concepto que se tuvo de la cirrosis, en relación a su morfología, fue el de un proceso que originaba un hígado endurecido y amarillento.

En 1543, Vesalio fue probablemente el primero en sugerir que las bebidas alcohólicas podían ejercer un efecto perjudicial sobre el hígado (Galambós, 1982), (Hernández, 1986).

La ascitis con cirrosis se describió por primera vez en 1590, la descompensación hepática con cirrosis en 1685, y la hipertensión portal en 1761.

En 1793, Matthew Baillie llamó la atención sobre la relación entre el alcohol y la enfermedad hepática.

En 1842, Rokitansky indicó que el endurecimiento del hígado en esta enfermedad estaba motivado por el crecimiento de tejido conjuntivo.

En 1939, Rössle estableció los tres criterios que luego fueron ampliamente aceptados y que según él debían caracterizar a este proceso:

- 1º) Necrosis hepática
- 2º) Formación activa de tejido conjuntivo, y
- 3º) Regeneración de las células hepáticas.

Más recientemente, expertos de la OMS, partiendo de datos exclusivamente morfológicos, han considerado necesarios y suficientes los criterios siguientes para definir la cirrosis:

- 1º) Que el proceso sea lo suficientemente difuso para excluir las lesiones locales, aunque no es necesario que se lesione cada lobulillo en particular.
- 2º) Que exista necrosis, con lo que quedan excluidas las fibrosis puras, por ejemplo la fibrosis hepática congénita.
- 3º) Debe existir además regeneración nodular y fibrosis difusa, quedando excluida la hiperplasia nodular regenerativa, y
- 4º) Debe haber, por fin, distorsión de la arquitectura hepática y alteración vascular.

Estos dos últimos criterios son muy importantes: El primero porque constituye la base del diagnóstico histopatológico en biopsias, y el segundo porque motiva en gran medida la fisiología de la enfermedad (Hernández, 1986).

En los últimos años, y a partir de los conocimientos que se han desarrollado como consecuencia del estudio de la morfología por trabajos con biopsias seriadas, investigaciones experimentales sobre la patogenia de la enfermedad hepática producida por el alcohol, y correlaciones anatomoclínicas y etiológicas, etc., se ha modificado lógicamente el concepto de cirrosis.

Actualmente, se puede definir la cirrosis como un síndrome anatomoclínico, de etiología diversa, con un substrato morfológico que comprende una desestructuración profunda de la arquitectura lobulillar, de carácter difuso, con compromiso del patrón vascular y que se expresa clínicamente por una sintomatología variada.

Es importante subrayar que el cuadro anatomoclínico así descrito corresponde a una

fase terminal de una serie de procesos que tienen antes una historia natural con frecuencia larga y desde luego generalmente diversa en su etiología y en sus manifestaciones clínicas y analíticas. A medida que estos procesos van llegando al estadio final de la enfermedad, van adquiriendo rasgos morfológicos, fisiopatológicos y clínicos más comunes, hasta que, por ejemplo, la causa de muerte o el estudio macroscópico del hígado pueden ser similares en procesos que han tenido etiología y manifestaciones clínicas y analíticas, en su comienzo, distintas.

II.1.2 ETIOLOGÍA

La cirrosis hepática es una enfermedad de etiología múltiple, como se ha comentado anteriormente. En realidad, la lista de procesos que pueden conducir a una cirrosis es bastante amplia. En la tabla II.1 se agrupan las etiologías más frecuentes. No obstante, es indudable que las causas más frecuentes de cirrosis son el etilismo y la hepatitis viral.

Tabla II.1.- Clasificación etiológica de las cirrosis

-
- I.- Alcohólica
 - II.- Después de una infección viral:
 - Virus B y Delta
 - Virus no A no B (Virus C)
 - III.- Criptogénica
 - IV.- Por estasis biliar
 - Primaria
 - Secundaria
 - V.- Por estasis hepático
 - VI.- Secundaria a errores congénitos:
 - Porfiria hepatocutánea
 - Con déficit de α_1 -antitripsina
 - Hemocromatosis
 - Enfermedad de Wilson
 - Glucogenosis
 - Galactosemia
 - Intolerancia a la fructosa
 - Tirosinosis
 - VII.- Mucoviscidosis
 - VIII.- Telangiectasia heredofamiliar (Rendu-Osler)
 - IX.- De origen tóxico (fármacos, productos de usos industrial, etc.)

(Tomado de Hernández, 1986)

II.1.2.1 Alcohol

Hace ya más de trescientos años que se demostró el efecto perjudicial que el alcohol tenía para el hígado. Hoy día se admite que del treinta al sesenta por ciento de las cirrosis que se diagnostican en países con alta incidencia de este proceso tienen una etiología etílica.

Dos hechos epidemiológicos apoyan la importancia del alcohol en la patogenia de la hepatopatía crónica: 1) la relación que existe entre consumo de alcohol por habitante y año y los fallecimientos por cirrosis, y 2) que la mortalidad por cirrosis disminuyó en diferentes países paralelamente a la abstinencia obligada: Ley Seca americana, Segunda Guerra Mundial, etc.

Peguinet, en Francia, llevó a cabo detallados estudios epidemiológicos, llegando a determinar incluso cuáles eran las cantidades de ingesta diaria de alcohol que podían resultar lesivas para el hígado. La ingesta de menos de 80 g/día la consideró escasamente peligrosa; por el contrario, la superior a 160 g/día resultaba altamente nociva. Entre estos dos valores quedarían cantidades que podían considerarse como de peligrosidad intermedia. Está reiteradamente comprobado que el alcohol tiene en las mujeres una mayor peligrosidad.

Está también establecido que la acción cirrótica del alcohol es lenta, por lo que se requieren varios años para que se desarrolle la cirrosis. Por ello, las manifestaciones de la enfermedad suelen producirse por encima de los cincuenta años. Desgraciadamente, dado que el hábito de beber se inicia cada vez en edades más precoces, son cada vez más frecuentes las cirrosis de sujetos de menos de cuarenta años.

No todas las personas con hábitos etílicos tienen la misma facilidad para que se desarrolle en ellos una hepatopatía. También la raza negra parece especialmente vulnerable. Está demostrado que existen además factores genéticos que condicionan una susceptibilidad variable. Estos factores pueden depender de la mayor facilidad para metabolizar el alcohol. Al respecto se han demostrado diversas peculiaridades en la función de la alcohol deshidrogenasa condicionadas genéticamente. Actualmente, se admite que solo una tercera parte de los alcohólicos crónicos desarrollan una cirrosis.

Desde los estudios de Rubin y Lieber, realizados en primates, se conocen perfectamente las lesiones que el alcohol produce en el hígado, y que van desde la esteatosis a la hepatitis alcohólica y a la cirrosis. Parece que la cirrosis se desarrolla a través de sucesivos episodios de hepatitis alcohólica. Además, parece que el alcohol tiene por sí solo un efecto estimulador de la fibrogénesis. Es interesante señalar que no todos los sujetos con hábitos etílicos que desarrollan una enfermedad hepática tienen una hepatopatía alcohólica. Se ha especulado con la posibilidad de que el alcohol actúe en estos casos simplemente como factor patogénico predisponente de otros factores como, por ejemplo, la infección por virus de la hepatitis (Hernández, 1986).

II.1.2.2 Hepatitis virales

Los estudios prospectivos en los que han seguido diversas serie de hepatitis virales han demostrado:

1º) Que la hepatitis A no se cronifica ni desarrolla cirrosis.

2º) Que la hepatitis B se cronifica en una proporción de un 8 a un 12 por 100, y que muchas de las hepatitis crónicas por virus B evolucionan a cirrosis, y

3º) Que la infección por virus Delta sólo se produce en pacientes que también están infectados por el virus B. Se ha observado sobre todo en drogadictos que utilizan la vía parenteral para administrarse las drogas, y ocasiona formas especialmente graves de hepatopatía viral crónica.

4º) Que las hepatitis anteriormente denominadas no A no B, sobre todo las postransfusionales, generalmente debidas a virus de hepatitis C, se cronifican en una proporción mayor aún que las B, desarrollando posteriormente muchos de estos enfermos una cirrosis. Un número difícil de determinar, pero quizá importante de las denominadas cirrosis criptogénicas, tienen su origen en hepatitis C crónicas (Sánchez-Tapias, 1992).

II.1.2.3 Otros factores

El tercer grupo de factores etiológicos implicado en el desarrollo de las cirrosis hepáticas lo constituyen una serie de trastornos de base genética y también aquellos procesos que producen un estasis crónico biliar o sanguíneo en el hígado.

Dentro de los primeros, tenemos la porfiria cutánea tarda como la enfermedad más frecuente implicada en el desarrollo de la cirrosis. Cuando se emplean habitualmente métodos de rastreo de esta enfermedad, como determinación sistemática de uroporfirinas en orina, observación bajo luz ultravioleta de los cilindros de biopsia recientemente obtenidos o busca intencionada de las típicas inclusiones aciculares de los hepatocitos, se observa que del cinco al ocho por ciento de los cirróticos están afectados de este trastorno congénito del metabolismo.

La hemocromatosis y la enfermedad de Wilson terminan generalmente desarrollando una cirrosis. La incidencia real de estas dos enfermedades, dentro del contexto global de la cirrosis, es indudablemente muy baja.

Más frecuentemente, se encuentran, en las biopsias de cirróticos, grumos PAS positivos y diastasa resistentes, dentro de los hepatocitos o a lo largo de los septos conjuntivos. Estos hallazgos indican un defecto en la excreción de alfa₁- antitripsina. La hepatopatía asociada a este trastorno está bien documentada y se observa sobre todo en la infancia, fase en la que produce cuadros colestásicos. En el adulto es difícil determinar si constituye un factor etiológico fundamental para el desarrollo de algunas cirrosis o actúa solamente como factor predisponente.

Hoy día, cada vez es menos frecuente que se den las circunstancias adecuadas para que se produzca un estasis sanguíneo o biliar en el hígado, puesto que los avances de la cirugía cardíaca suelen corregir debidamente y a tiempo las enfermedades valvulares o la pericarditis. También han mejorado las técnicas de cirugía biliar.

Continúan observándose con igual frecuencia casos de cirrosis biliar primaria. La

incidencia de este proceso es aproximadamente de un caso por cada cien enfermos de cirrosis.

II.1.3 ASPECTOS MORFOLÓGICOS

II.1.3.1 Alteraciones macroscópicas

Como se ha dicho anteriormente, fue el aspecto macroscópico del hígado el que sirvió clásicamente para definir la cirrosis hepática, puesto que éste se altera profundamente en el proceso. Además, los primeros estudios que se hicieron para intentar profundizar en la pluralidad etiológica de la enfermedad fueron estudios morfológicos basados en establecer correlaciones entre la morfología macro-microscópica y la posible etiología (Hernández, 1986), (Sánchez-Tapias, 1992).

En la literatura clásica en relación con este proceso, sistemáticamente se intentaba realizar una clasificación morfológica de la cirrosis, basándose en el tamaño de los nódulos, mayor o menor irregularidad de la superficie, etc. Hace ya algún tiempo que se ha visto el escaso interés que tienen estas clasificaciones.

En cuanto a las posibles relaciones que las características de la nodulación puedan tener con la etiología, continúa vigente el hecho de que la cirrosis alcohólica suele ser con mayor frecuencia micronodular y monolobular.

El tamaño del hígado varía mucho de unas formas de cirrosis a otras. Es pequeño, atrófico, en la clásica cirrosis de Laennec y, en cambio, grande, hipertrófico, con peso incluso mayor de 3000 g, en algunas formas de cirrosis alcohólica y en ciertas hemocromatosis.

La coloración, sobre la que hay amplia información después de la difusión de las exploraciones laparoscópicas, también es variable al igual que los hechos histopatológicos subyacentes. Así, cuando hay esteatosis o esteatonecrosis, como en la hepatopatía alcohólica, es amarillento asalmonado. En la hemocromatosis es pardo, grisáceo en la

porfiria cutánea tarda y verdoso en algunas cirrosis biliares. Congestivo y amoratado, en la cirrosis cardíaca, y rojo encendido cuando hay inflamación activa, porque existe actividad necrótica.

La consistencia del hígado está aumentada y el borde, frecuentemente adelgazado y escleroso.

En la superficie, además de los cambios de nodulación y de coloración, pueden verse engrosamientos de la cápsula, que se traducen en placas blanquecinas. También, dilataciones de los linfáticos subcapsulares e incluso verdaderos quistes linfáticos, que al romperse trasudan linfa, contribuyendo así a la producción de la ascitis (Hernández, 1986).

II.1.3.2 Alteraciones microscópicas

Actualmente y gracias a la posibilidad del estudio histopatológico, mediante biopsias seriadas de las enfermedades precirróticas (hepatitis crónica, hepatitis alcohólica, etc.), se ha podido describir adecuadamente la morfogénesis de la cirrosis.

El primer hecho que va a conducir a la cirrosis es la necrosis del parénquima: necrosis erosiva o necrosis en puentes en la hepatitis crónica viral y esteatonecrosis en la hepatitis alcohólica. Después se origina la fibrosis. El colágeno del hígado en la cirrosis está actualmente bien estudiado. Se produce espesamiento del colágeno, secundario al colapso que produce la necrosis, pero también existe una colagenización activa. Está aumentada la prolilhidroxilasa, que es una enzima responsable de la formación de colágeno. Aumenta además la función de los fibroblastos y de los macrófagos. Otros factores favorecedores de la colagenización pueden ser directamente el alcohol, que actúa quizá por un aumento del ácido láctico tisular, y el Fe en la hemocromatosis y en otras formas de cirrosis con hemosiderosis. Existen distintos tipos de colágenos. El tipo I aumenta en las zonas portales y centrolobulillares. En los procesos más antiguos predomina el colágeno tipo III. La reticulina aumenta sobre todo en los sinusoides. Otros tipos de colágeno aumentan en las membranas basales. Se ha descrito también en la cirrosis que aumenta la transformación de los adipocitos sinusoidales o células de Ito en células formadoras de colágeno.

Sucesivos fenómenos de necrosis y colagenización van transformando la arquitectura lobulillar. A ello contribuyen también los fenómenos regenerativos (Galambós, 1982).

Estas alteraciones originan una notable desestructuración del patrón vascular intrahepático, hecho que, unido a la colagenización de las sinusoides, va a tener extraordinaria transcendencia, pues genera el deterioro en la nutrición y oxigenación de las células hepáticas, produciendo fenómenos patogénicos secundarios y alteraciones de la hemodinámica portal.

Además de este tipo de cambios morfológicos, que podríamos denominar generales y básicos de todas las cirrosis, pueden aparecer hallazgos histológicos más o menos específicos de gran importancia porque van a permitir hacer una filiación etiológica del proceso (Tabla II.2).

Tabla II.3.- Hallazgos histológicos en la cirrosis, de interés para una filiación etiológica

Hialina de Mallory. Megamitocondrias. Esteato-necrosis	Etilismo
Hepatocitos esmerilados, orceína positivos	Virus de la hepatitis B
Inclusiones aciculares birrefringentes	Porfiria cutánea tarda
Depósitos globoides periseptales, PAS positivos	Déficit de α_1 -antitripsina
Depósitos lisosomales de Cu	Enfermedad de Wilson
Patrón en "puzle". Intenso depósito de Fe	Hemocromatosis
Granulomas periductales	Cirrosis biliar primaria

(Tomado de Hernández, 1986).

La evidenciación de estos hallazgos, que permite en líneas generales la identificación etiológica del cuarenta por ciento de las cirrosis, requiere una notable pericia por parte del observador, circunstancia muy importante de valorar al plantearse el realizar una biopsia hepática.

Un hecho interesante y debatido en el estudio histopatológico del hígado cirrótico es el de considerar hasta que punto ese estudio resulta fiable para juzgar el grado de actividad del proceso. Suele considerarse que una cirrosis está activa cuando existe un infiltrado abundante en las zonas de interfase entre el estroma y el parénquima. Es indudable, sin embargo, que estas alteraciones son difíciles de valorar en muchos casos ante la profunda modificación estructural y la pequeñez relativa de la muestra, lo que puede hacerla poco representativa de lo que ocurre en la masa total de la víscera.

II.1.4 DIAGNÓSTICO

II.1.4.1 Pruebas analíticas

Los enfermos cirróticos tienen frecuentemente anemia de origen multifactorial. En los alcohólicos, hay déficit de ácido fólico. En ocasiones, también hay hemólisis. En la anemia también puede influir el hiperesplenismo. Otra causa de anemia la constituyen las hemorragias digestivas patentes u ocultas. En los cirróticos con hipertensión portal establecida es corriente la leucopenia y la plaquetopenia. Esta última puede significar un factor patológico asociado al déficit de coagulación.

El descenso de actividad del complejo protrombínico es habitual en la cirrosis y un dato de valor para juzgar el grado evolutivo del proceso. Esta alteración favorece las hemorragias cutaneomucosas.

También pueden estar alteradas en el cirrótico la actividad sérica de algunas enzimas hepáticas, con elevación, generalmente discreta, de las transaminasas, de la gammaglutamiltranspeptidasa y de la fosfatasa alcalina (Solís, 1984), (Williams, 1988), (Arenas, 1989), (Bruguera, 1990).

Son habituales las alteraciones de las proteínas del plasma, con hipoalbuminemia severa en la cirrosis avanzada e hipergammaglobulinemia con frecuentes gammapatías policlonales originadas por la demanda de anticuerpos.

Este aspecto de las pruebas analíticas será desarrollado más adelante con mayor amplitud.

II.1.4.2 Otras pruebas diagnósticas

Cuando existe la sospecha clínica y/o analítica de cirrosis hepática, es obligado realizar una serie de exploraciones complementarias con la intención de:

- Sentar un diagnóstico morfológico seguro
- Establecer una filiación etiológica del proceso, y
- Saber cuál es su grado evolutivo y su actividad como base para establecer un pronóstico.

Estas exploraciones se deben realizar con una jerarquización determinada: yendo de menor a mayor complejidad técnica y de menor a mayor agresividad. Es indudable, como ya se ha dicho, que al ser el diagnóstico de cirrosis básicamente estructural, el estudio final deberá ser morfológico mediante una biopsia hepática, preferentemente realizada bajo control laparoscópico.

En el apartado correspondiente (II.1.3.2) se han descrito cuáles son las peculiaridades más remarcables de los diferentes tipos de cirrosis y que pueden ser bien estudiadas en la biopsia hepática. No obstante, es necesario indicar que el estudio de la biopsia hepática puede tener dificultades atribuibles a lo que se han denominado errores de muestra y de observador. El error de muestra viene producido por el hecho de que, aunque sea la cirrosis un proceso difuso que afecte a todo el hígado, el cilindro biopsico sólo representa una pequeñísima parte del órgano; las alteraciones, aunque difusas, pueden no tener el mismo grado de evolución de unas zonas a otras. Además, para establecer cómodamente el diagnóstico histopatológico de cirrosis es conveniente valorar las relaciones entre los septos conjuntivos y la arquitectura del parénquima hepático. El cilindro biopsico a menudo tiende a partirse precisamente por las zonas más fibrosas, por lo que puede ocurrir que paradójicamente cuanta más fibrosis hay, sobre todo si el cilindro es mal manipulado, más difícil será objetivar ésta al microscopio. La fragmentación tiende a producirse especialmente si las agujas de punción

son finas, por ejemplo, aguja de Menghini clásica.

Si al tomar la biopsia se cae en un macronódulo, es difícil establecer el diagnóstico, pues falta el suficiente tejido conjuntivo y apenas se podrán ver septos. Todos estos hechos complican la interpretación y dan motivo a errores (Bordás, 1992).

Más fácil es realizar el diagnóstico genérico de cirrosis mediante la exploración laparoscópica. En efecto, los cambios que aparecen en la superficie hepática son bien característicos: nodulación más o menos grosera, esclerosis del borde que con frecuencia está evertido, dureza del órgano, engrosamientos capsulares, aparición en la superficie de quistes linfáticos. El color también está alterado, siendo el más habitual el rosa pálido; pero si existe esteatosis, hay zonas amarillentas. Si hay depósito de hierro, sobre todo en la hemocromatosis, el color es pardo; en las cirrosis biliares primarias o en los episodios colestásicos, que a veces se presentan en la evolución de la cirrosis, hay manchas verdosas; en la porfiria cutánea se observan pigmentaciones grisáceas.

La exploración laparoscópica en las cirrosis permite descubrir otras alteraciones endoabdominales que se asocian a los cambios morfológicos sobre el hígado; por ejemplo, puede verse si existe o no ascitis o esplenomegalia. Cuando existe hipertensión portal aumenta la circulación peritoneal, pudiendo aparecer en los mesos, vasos de grueso calibre.

Con la laparoscopia pueden identificarse los cambios en la coloración y las características macroscópicas de los nódulos cirróticos degenerados en el hepatocarcinoma insertado sobre la cirrosis. Además, la laparoscopia permite controlar bien la toma de biopsia y asegurarse de la hemostasia del sitio de punción.

En el caso de que existan contraindicaciones formales, sociales o personales para realizar laparoscopia y biopsia hepática, sobre todo cuando existe una afectación severa de la coagulación, debe recurrirse a algún método de estudio por imágenes:

Dentro de este apartado, **el estudio gammagráfico con coloide radiactivo**, al tiempo que proporciona imágenes muy demostrativas, aporta información sobre la capacidad

funcional por el grado de concentración de la radiactividad. Con la gammagrafía se tiene además información sobre el tamaño del bazo. Es muy característica de la cirrosis avanzada la imagen de captación pobre e irregular por el hígado, con esplenomegalia y captación difusa extrahepatoesplénica por la médula ósea.

La **ecografía hepática** puede ser también muy útil. Esta exploración tiene el inconveniente de un cierto grado de subjetivismo por parte del observador. La ecografía aporta datos valiosos para conocer el grado de hipertensión portal según el grado de dilatación de la porta y de sus ramas. También tiene valor en el diagnóstico del hepatocarcinoma insertado sobre la cirrosis.

La utilidad de la **tomografía computarizada** es complementar las técnicas anteriores, dado su coste y grado de complejidad (Hernández, 1986), (Bordás, 1992).

II.1.5 PRONÓSTICO

El pronóstico genérico de la cirrosis es muy difícil de establecer ya que, como se ha dicho anteriormente, hoy día se diagnostican cirrosis en muy diferentes estados de evolución e incluso asintomáticas, en fase subclínica. El porvenir de los enfermos diagnosticados de cirrosis asintomática no es a menudo tan sombrío como se había pensado. Pueden vivir varios años sin morbilidad. No es incluso excepcional el hallazgo de cirrosis en necropsias de sujetos fallecidos por causas ajenas a la cirrosis, que no han presentado jamás síntomas atribuibles a tal proceso.

Sin embargo, la esperanza de vida del cirrótico diagnosticado por una complicación de su enfermedad es desde luego más corta que la de los cirróticos "sin complicaciones". Numerosos estudios han demostrado que la supervivencia al cabo de dos años de los cirróticos diagnosticados a raíz de presentar una complicación no es superior al cincuenta por ciento, y a los cinco años, sólo viven del cinco al diez por 100 de ellos.

Otros estudios han tratado de valorar factores clínicos y analíticos de utilidad para predecir el pronóstico. Existe una buena correlación entre las categorías de la clasificación

de Child (Child, 1964) y la supervivencia de los pacientes (Christensen, 1984). Esta clasificación divide a los pacientes en tres grupos: A, B y C, que corresponden a situaciones de buena función hepática, insuficiencia hepatocelular moderada y fallo hepático avanzado, según el análisis de parámetros muy simples como concentración sérica de albúmina y bilirrubina, presencia de ascitis, existencia de encefalopatía y estado nutricional. Los del grupo A toleran bien la cirugía, a diferencia del mal porvenir de los del grupo C, siendo intermedio el pronóstico de los pacientes que pertenecen al grupo B (Tabla II.3).

Más reciente resulta la clasificación de Child-Pugh (Pugh, 1973), establecida sobre los mismos criterios anteriores pero modificando el estado nutricional del paciente por otro parámetro menos subjetivo, como es la tasa de protrombina (Tabla II.4). A cada uno de los parámetros estudiados se le asigna un valor de 1, 2 o 3 puntos, por lo que la puntuación final obtenida, por suma de los valores de los cinco parámetros oscilará entre un valor mínimo de 5 y el máximo de 15.

Tabla II.3.- Clasificación de Child

PARÁMETRO	A	B	C
Bilirrubina	2 mg	2-3 mg	>3 mg
Albúmina	>3.5 g	3-3.5 g	<3.5 g
Ascitis	No	Controlable	Difícilmente controlable
Encefalopatía	No	Mínima	Importante
Nutrición	Excelente	Buena	Mala

(Tomado de Child, 1964).

La clasificación de Child-Pugh tiene utilidad para definir el pronóstico no sólo en relación con la hemorragia sino también con otras circunstancias, por ejemplo, la necesidad de practicar intervenciones quirúrgicas, ya sean electivas o urgentes. La elevada mortalidad quirúrgica en pacientes del grupo C de Child hace que raramente esté indicada la cirugía en estos enfermos.

Tabla II.4.- Clasificación de Child-Pugh

Parámetro	Rango	Puntos
Encefalopatía	No	1
	I y II	2
	III y IV	3
Ascitis	No	1
	Ligera	2
	Masiva	3
Bilirrubina (mg/dl)	Inferior a 2	1
	Entre 2 y 3	2
	Superior a 3	3
Albúmina (g/dl)	Superior a 3.5	1
	Entre 2.8 y 3.5	2
	Inferior a 2.8	3
Tasa de Protrombina	Superior a 50%	1
	Entre 30 y 50%	2
	Inferior a 30%	3

(Tomado de Pugh, 1973).

Otro intento de cuantificar el pronóstico de la cirrosis ha sido el propuesto por Orrego (Orrego, 1983), basado en un índice clínico-analítico derivado del estudio de quince parámetros. Tiene el inconveniente de haberse desarrollado exclusivamente para el estudio de la cirrosis alcohólica, aunque su uso puede extenderse a otros grupos de cirróticos. (Tabla II.5). Cuando la suma de los valores señalados es de 10 o inferior, la supervivencia al año es superior al noventa por ciento, pero dicha supervivencia disminuye rápidamente al veinte por ciento si dicha suma es superior a 15, siendo prácticamente nula la supervivencia en el caso de valores superiores a 20.

Tabla II.5.- Índice pronóstico de Orrego

Parámetro	Grado	Puntuación
Encefalopatía	1-3	2
Circulación colateral	1-3	1-3
Edema	1-3	1-2
Ascitis	1-3	2
Arañas vasculares	10	1
Debilidad	-	1
Anorexia	-	1
Protrombina	4-5	1
(segundos-control)	> 5	2
Hematocrito	75-90	1
(% Normalidad)	< 75	3
Bilirrubina	2.1-8	2
(mg/dl)	> 8	3
Fosfatasa alcalina (UI/dl)	> 330	2

(Tomado de Orrego, 1983)

II.2 ASPECTOS GENERALES SOBRE LA EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

El hígado es un órgano complejo que realiza múltiples funciones. Más de cien pruebas de función hepática se han basado en otras tantas reacciones que ocurren en el hígado; muchas de ellas han sido abandonadas por no aportar nada nuevo o en función de su complejidad (Hyman, 1978). Resulta imposible intentar separar las funciones hepáticas propias de los hepatocitos, del mesénquima y de las vías biliares, debido a su completa interdependencia dentro de un órgano tan complejo como el hígado. En términos generales, existen demasiadas pruebas de laboratorio, pero son escasas las que se interpretan correctamente, y relativamente pocas las que pueden lograr una mejoría de la asistencia clínica del paciente.

Entre las pruebas de laboratorio más útiles y que deben incluirse siempre en la valoración diagnóstica habitual de las hepatopatías destacan la concentración sérica de bilirrubina, las actividades enzimáticas séricas de fosfatasa alcalina y de transaminasas y el tiempo de protrombina.

Existen otras muchas pruebas válidas para situaciones especiales: -Determinación de diversos antígenos y anticuerpos de origen vírico (en sospecha clínica de hepatitis vírica A, B, C, Delta). Determinación de la concentración sérica de cobre y ceruloplasmina (ante una posible enfermedad de Wilson), electroforesis de las proteínas del suero (en una posible deficiencia de α_1 -antitripsina), determinación de la presencia en suero de anticuerpos antimitocondriales (en cirrosis biliar primaria), exploración de eliminación de medios de contraste (en enfermos con hiperbilirrubinemia congénita), concentración de α -fetoproteína (ante la sospecha de carcinoma hepatocelular). (Berkow, 1989).

En algunas hepatopatías crónicas, todos los resultados pueden ser normales, como ocurre a veces en la cirrosis compensada o subclínica. Por ello en la práctica son útiles algunas exploraciones ecográficas o radiológicas, o es necesario recurrir a métodos invasivos como la biopsia hepática, laparoscopia o colangiografía retrógrada. (Carmena, 1982).

Las pruebas de laboratorio que evalúan la función hepática las podemos clasificar, con fines prácticos, en dos grupos:

II.2.1 PRUEBAS ÚTILES EN LA VALORACIÓN DIAGNÓSTICA HABITUAL

II.2.1.1 Albúmina sérica

El hígado sintetiza de manera exclusiva la albúmina en sus células parenquimatosas (Escartín, 1990). El hígado sano produce normalmente de 10 a 15 g (0.02 Mm) cada día. La concentración sérica de albúmina puede disminuir al bajar la síntesis o aumentar la eliminación. Lo primero ocurre en la malnutrición o bien debido a la enfermedad hepática. La excesiva eliminación se observa en el síndrome nefrótico o en la "enteropatía pierde proteínas". Debido a que su vida media es de aproximadamente veinte días, la determinación de su concentración en suero tiene poco valor como índice diagnóstico de la función hepatocelular en las enfermedades hepáticas agudas. Además, la prueba en sí carece de sensibilidad y especificidad. En la hepatopatía crónica -como la cirrosis- la albúmina sérica puede ser un buen indicador de la gravedad de la hepatopatía, siempre que se pueda descartar la infección crónica, la malnutrición y los demás factores antes mencionados, (Arenas, 1989).

II.2.1.2 Factores de coagulación

Los factores plasmáticos de coagulación tienen una corta vida media y, a excepción del VIII, todos ellos son sintetizados por el hígado. Debido a esto, en la enfermedad hepática se detecta casi siempre un tiempo de protrombina prolongado, que a su vez depende de la actividad de los factores II, V, VII y X. El factor VIII, por el contrario, no suele alterarse, por lo que su determinación puede ayudar a distinguir si el origen de la alteración es hepático o no (Escartín, 1990). La determinación del tiempo de protrombina, después de excluir una deficiencia de vitamina K, es la prueba individual más útil para el seguimiento clínico de los enfermos con una hepatitis aguda grave -ya sea una hepatitis aguda, tóxica o vírica (Berkow, 1989).

II.2.1.3 Gammaglobulinas

Las células hepáticas son el lugar de síntesis de alfa y beta globulinas. Las gammaglobulinas se sintetizan en las células del sistema retículo endotelial y, por eso, su origen es extrahepático. La concentración total de globulinas puede subir en cualquier hepatopatía crónica, pero no, por lo general, en los procesos agudos. Las concentraciones más altas se encuentran en las hepatitis autoinmunes. Las concentraciones elevadas de globulinas son debidas principalmente a la fracción gammaglobulínica, en particular a las inmunoglobulinas (Solís, 1984). El aumento de las gammaglobulinas es frecuente también en otros muchos procesos ajenos al hígado. El significado de este aumento en la cirrosis hepática puede ser el estímulo del sistema inmunológico debido a la presencia de múltiples antígenos, que eludiendo el parénquima hepático alcanzan la circulación sistémica, debido a la circulación colateral y a una mala función kupfferiana. En la cirrosis alcohólica predomina el ascenso de IgA, mientras que en la hepatitis crónica activa el ascenso es de IgG, y en la cirrosis biliar primaria es de IgM (Stoltz, 1990).

II.2.1.4 Bilirrubina

El catabolismo del grupo Hemo produce pigmentos biliares, procedentes de la hemoglobina de los hematíes degenerados, de precursores de los hematíes en la médula ósea y de proteínas con el grupo hemo del hígado y de otros tejidos.

La concentración sérica de bilirrubina refleja, sustancialmente, el balance entre la destrucción de eritrocitos y la capacidad del hígado para captarla, conjugarla y excretarla. La determinación de bilirrubina no es una prueba especialmente sensible, ya que el hígado tiene una gran capacidad para eliminarla, por lo que puede existir una hepatopatía grave con un valor de bilirrubina normal o casi normal. Además, la bilirrubinemia puede aumentar en enfermedades ajenas al hígado, como la eritropoyesis ineficaz, la hemolisis o problemas de transporte de la bilirrubina.

La hiperbilirrubinemia con cifras moderadamente elevadas (hasta 4-5 mg/dl) y con función hepática normal, sugiere la enfermedad de Gilbert si predomina la fracción indirecta,

mientras que si la fracción que predomina es la directa, sugiere una enfermedad de Dubin-Johnson o Rotor.

El fraccionamiento de la bilirrubina total en sus fracciones directa e indirecta tiene interés clínico, ya que la conjugación es un proceso genuinamente hepático.

En circunstancias normales, la fracción directa viene a representar un veinte por ciento de la bilirrubina total, elevándose esta proporción en casi todas las enfermedades hepáticas, de modo que aun en ausencia de bilirrubinemia elevada, el aumento del porcentaje de bilirrubina directa es un índice sensible de hepatopatía o de una colestasis extrahepática. Sin embargo, este fraccionamiento no es sencillo, y los métodos habituales de laboratorio no son del todo fiables. El aumento de la bilirrubina indirecta aporta poco al estudio de las hepatopatías. Su aumento se produce tanto en los fallos de la conjugación hepática (enfermedad de Gilbert y de Crigler-Najjar), como en los de mecanismo de transporte de la bilirrubina, por mala fijación de la misma a la albúmina producida por la acción de sulfamidas y salicilatos o por otros fármacos. Esta fracción aumenta cuando la oferta al hígado de bilirrubina sube, como por ejemplo en los casos de hemolisis, tanto de hemáties como de precursores de los mismos, en el caso de eritropoyesis ineficaz. Asimismo, la captación hepática puede estar alterada por inhibición competitiva, por ejemplo, con ácido flavaspídico. Todo esto es índice de la poca especificidad de la bilirrubina indirecta en el estudio habitual de las hepatopatías.

La bilirrubina en orina indica una hiperbilirrubinemia conjugada, ya que antes de esta conjugación, la unión a la albúmina imposibilita la filtración renal. Sin embargo, la correlación entre la bilirrubinuria y la elevación de bilirrubina conjugada no es perfecta, ya que influye las concentraciones de albúmina, sales biliares, así como la filtración glomerular y la reabsorción tubular de bilirrubina (Sherlock, 1979), (Stolz, 1990).

La presencia de urobilinógeno en orina ha sido prácticamente abandonada, por el gran número de factores que influyen en la misma: hemolisis, estreñimiento, sobrecrecimientos bacterianos, etc.

II.2.1.5 Enzimas séricas

En todos los tipos de hepatopatías es frecuente observar un aumento de la actividad sérica de ciertas enzimas de origen hepatobiliar.

II.2.1.5.1 Transaminasas

Las enzimas aspartato-aminotransferasa (AST o SGOT o GOT) y alanino-aminotransferasa (ALT o SGPT o GPT) son enzimas intracelulares encontradas en la mayoría de tejidos. A gran concentración se encuentran en el hígado, corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, cerebro y riñón. Catalizan gran variedad de reacciones metabólicas. La AST está presente fundamentalmente en la mitocondria y en el citoplasma, mientras que la ALT se haya exclusivamente en el citoplasma celular. Estas enzimas se liberan cuando aumenta la permeabilidad de la membrana celular o cuando ésta se rompe.

Las actividades enzimáticas de AST y ALT del suero aumentan sobre todo en la necrosis hepática aguda y, en menor grado, en las hepatopatías crónicas y en la colestasis (Carmena, 1982), (Rodés, 1982).

Las transaminasas, al no ser enzimas exclusivamente hepáticas, pueden mostrar actividad enzimática sérica elevada en procesos ajenos al hígado, como miopatías, pancreatitis e infarto de miocardio. La ALT es mas específica del hígado, por lo que en los procesos extrahepáticos suele haber un mayor aumento relativo de la AST. Los valores de actividad enzimática sérica de transaminasas son variables en la cirrosis, altos en la hepatitis crónica activa, y muy altos en la necrosis hepática de cualquier etiología, vírica o tóxica. Su gran sensibilidad hace que con cierta frecuencia se eleven en muchas otras circunstancias, como la obesidad, insuficiencia cardíaca, colestasis o muchos tipos de tumores extrahepáticos. Se admite que una relación de AST/ALT mayor de dos puede indicar hepatitis alcohólica. Ciertas dietas (cuando el 25-30 por ciento proviene de la sacarosa) pueden producir elevación de las transaminasas (Chopra, 1985). En sujetos urémicos, los valores de AST pueden aparecer falsamente bajos cuando la determinación se realiza mediante autoanalizadores (Chopra, 1985).

II.2.1.5.2 Grupo de la fosfatasa alcalina

Está constituido por un grupo de enzimas capaces de hidrolizar a pH alcalino las uniones estéricas de los fosfatos orgánicos. La actividad sérica de la fosfatasa alcalina puede proceder del hígado, huesos, intestino, páncreas, pulmones, riñón y placenta. Puede aumentar en las enfermedades de estos órganos así como en el embarazo y en ciertas neoplasias aún sin metástasis hepáticas (Carmena, 1982), (Rodés, 1982), (Stolz, 1990), (Bordás, 1992).

En el hígado esta enzima se puede encontrar -mediante estudios histoquímicos- en el sinusoide hepático y en los bordes canaliculares del hepatocito. En ésta y otras células se cree que su función fisiológica está relacionada con el transporte activo de la membrana. La determinación de la actividad enzimática en suero no es una prueba **sensible** -puede permanecer normal en gran número de hepatopatías- ni **específica** -puede aumentar en muchas enfermedades y procesos extrahepáticos-. Sin embargo, su elevación selectiva en colestasis de cualquier naturaleza (la mayor actividad de la fosfatasa alcalina hepática se detecta en las microvellosidades del canalículo biliar del hepatocito), así como en las lesiones ocupantes de espacio e infiltraciones hepáticas, hacen muy útil su uso rutinario (Solís, 1984).

En niños normales que están creciendo, la fosfatasa alcalina puede elevarse más de tres veces por encima de los valores normales, por liberación desde el tejido osteoide. Algo parecido ocurre en el tercer trimestre del embarazo, siendo en este caso la placenta la responsable de esta elevación. Por otro lado, en personas mayores de cincuenta años puede hallarse elevada por razones poco claras, especialmente tras comidas grasas. Valores muy elevados de la actividad sérica de esta enzima se hallan en los pacientes con hígado normal, pero con procesos osteoblásticos (por ejemplo, en la enfermedad de Paget).

La determinación de isoenzimas de la fosfatasa alcalina posee interés, aún cuando no esté al alcance de todos los laboratorios. La isoenzima más importante es la de origen hepático y se describe como "banda hepática lenta". Ésta se presenta aun cuando existan otras isoenzimas, por otro lado presentes en concentraciones muy variables dependientes de las circunstancias patológicas subyacentes: huesos, intestino, placenta o tumores. De esta manera cabría distinguir varios patrones diferentes en distintas hepatopatías:

1. En un 25 por 100 de los pacientes con cirrosis se detecta una banda intestinal.
2. En colestasis con enfermedad ósea secundaria se puede detectar la isoenzima ósea.
3. La isoenzima biliar es posible detectarla en cirrosis biliar primaria y en carcinoma del conducto biliar.
4. Una isoenzima de origen hepático y migración rápida no es detectable en la cirrosis y sí en colestasis.
5. La enzima de Regan, una isoenzima tumoral que se puede detectar en pacientes con carcinoma del conducto biliar.

Dado que el método de referencia para conocer el origen de una fosfatasa alcalina es la electroforesis en gel de poliacrilamida, y este método no se halla disponible en la mayoría de laboratorios, resulta conveniente complementar la determinación de esta enzima con la gamma-glutamil-transpeptidasa (GGT) y/o la 5'-nucleotidasa. La elevación conjunta de muchas enzimas indica con toda probabilidad una patología hepatobiliar. Hay que tener en cuenta al respecto que la elevación aislada de GGT y no de fosfatasa puede simplemente indicar una inducción enzimática por fármacos o por alcohol (Vilardell, 1988).

Debido a que la elevación de la actividad sérica de la fosfatasa alcalina puede deberse tanto a una hepatopatía como a otros procesos extrahepáticos ya mencionados, este parámetro por sí solo tiene poco valor discriminatorio.

II.2.2 LOS XENOBIÓTICOS COMO INDICADORES DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

II.2.2.1 Aspectos generales

Uno de los factores que ha limitado el desarrollo de la hepatología ha sido la dificultad para obtener información cuantitativa sobre la naturaleza y extensión de la patología o lesión hepática.

La falta de sensibilidad y/o especificidad de las pruebas de función hepática ya ha sido comentado anteriormente (II.2.1).

Un método más específico para medir aspectos funcionales del hígado consiste en determinar la velocidad de eliminación de una sustancia exógena (fármaco o xenobiótico) administrada al organismo (Branch, 1982). No es extraño que tanto las enfermedades hepáticas agudas como crónicas puedan alterar grandemente la eliminación de fármacos, en particular los que se metabolizan por el hígado (Wilkinson, 1976).

El objetivo a largo plazo podría ser obtener algún parámetro bioquímico endógeno que pueda correlacionarse con la capacidad funcional del hígado, del mismo modo que la creatinina sérica o el aclaramiento de creatinina sirven para medir la función renal.

Debido a que la enfermedad hepática puede alterar varios aspectos de la función metabólica de los hepatocitos así como el flujo sanguíneo hepático, sería deseable poder medir las funciones metabólicas y el flujo sanguíneo del hígado como variables diferentes (Branch, 1982).

Con el desarrollo de la farmacocinética, y debido al mejor conocimiento de los factores fisiológicos que influyen en la eliminación de fármacos, un gran número de éstos se han usado y evaluado como pruebas de función hepática. Los xenobióticos utilizados con este fin pertenecen a dos grupos:

II.2.2.2 Xenobióticos con bajo aclaramiento intrínseco

Las sustancias de este apartado deben presentar un metabolismo exclusivamente hepático, para que el aclaramiento total sea igual al aclaramiento hepático. Permiten valorar el sistema metabólico hepático, que estará estrechamente vinculado al aclaramiento hepático. A su vez, este valor es independiente de las variaciones en el flujo sanguíneo del hígado. Para medir cuantitativamente la función hepática a partir de la velocidad con que el hígado elimina los xenobióticos de la sangre, se asume que el proceso responsable de la eliminación varía en función de los cambios producidos por la lesión hepática y que, idealmente, estas variaciones son proporcionales a la masa celular funcional hepática. Algunas de las sustancias que se han utilizado clásicamente dentro del grupo se describen a continuación:

II.2.2.2.1 Antipirina

El aclaramiento de la antipirina ha sido el método más habitual para evaluar el metabolismo oxidativo hepático. Algunas de las características de la antipirina son:

- Es rápida y completamente absorbida después de su administración oral
- Es una sustancia que se metaboliza exclusiva y lentamente por el hígado. Alrededor de un cinco por ciento se excreta inalterada por la orina. Los metabolitos principales son: 4(OH)-antipirina, norantipirina, 3(OH)-antipirina y 3 carboxi-antipirina (Danhof, 1982)
- Se distribuye en el agua corporal total, siendo su fijación tisular despreciable
- Es poco tóxica para el hombre y fácilmente cuantificable por espectrofotometría (Branch, 1976) o cromatografía (Danhof, 1979)
- Su aclaramiento salival se correlaciona bien con el aclaramiento plasmático (Welch, 1975).

La medida del aclaramiento de antipirina permite estudiar la inducción (Patsalos, 1988) o inhibición (Teunissen, 1985) de algunos medicamentos sobre el citocromo P-450 hepático. Las variaciones interindividuales pueden llegar hasta el cuarenta por ciento y, además, en caso de medidas repetidas, hay que tener en cuenta el efecto inductor de la antipirina sobre su propio metabolismo (Poulsen, 1988). Hay varios inductores que modifican de forma distinta el aclaramiento de los metabolitos de la antipirina (Toverud, 1981), (Danhof, 1982).

El aclaramiento de la antipirina ha sido también usado para medir la evolución o gravedad de una hepatopatía. Parece que tiene utilidad pronóstica en el caso de hepatitis viral o tóxica (Poulsen, 1988). Sin embargo, a causa de sus variaciones interindividuales, se ha señalado que el aclaramiento de la antipirina de un paciente cirrótico podría confundirse con el de un sujeto sano (Branch, 1982).

II.2.2.2.2 Aminopirina

La prueba del aliento de la aminopirina permite evaluar la actividad desmetiladora del hígado. Se administra aminopirina marcada con ^{14}C en el radical metilo, y se analiza el $^{14}\text{CO}_2$

espirado. El resultado de esta prueba se expresa como el porcentaje de ^{14}C -aminopirina espirado como $^{14}\text{CO}_2$, dos horas después de la administración oral de la sustancia. Existen algunos inconvenientes para la utilización de esta prueba:

- Necesita utilizar productos marcados con radiactividad, lo que limita o incluso impide su uso en algunos países como Francia

- El resultado depende de la función respiratoria del sujeto explorado

- Refleja una relación de eliminación y no un aclaramiento

Sin embargo, los resultados de esta prueba parecen ser un buen reflejo de la actividad del metabolismo oxidativo hepático, por lo que se ha utilizado para poner de manifiesto la inducción enzimática del citocromo P-450 hepático (Hepner, 1977). También se ha señalado una disminución en el CO_2 espirado en los pacientes con hepatopatías (Galizzi, 1978), (Burnstein, 1981), (Pauwels, 1982).

II.2.2.2.3 Otros

Otros xenobióticos empleados, dentro de este grupo, como indicadores del metabolismo hepático son: Diazepam (Andreasen, 1976), Ciclobarbitol (Breyer Pfaff, 1979, 1984), Hexobarbitol (Breimer, 1975), Fenacetina, Clordiazepóxido, (Hepner, 1977), (Branch, 1982),) y Cafeína (Renner, 1984).

II.2.2.3 Xenobióticos con alto aclaramiento intrínseco

Las variaciones en el flujo sanguíneo del hígado modifican el aclaramiento hepático de las sustancias con alto aclaramiento intrínseco que, por esto, se utilizan como un método no invasivo para evaluar el flujo sanguíneo hepático.

La relación entre las alteraciones del flujo sanguíneo hepático, el aclaramiento intrínseco y la circulación portal, en pacientes cirróticos, ha sido revisada por PM Huet utilizando el verde de indocianina y la lidocaína (Huet, 1983).

II.2.2.3.1 Verde de indocianina

El aclaramiento del verde de indocianina fue el primer método que utilizó un xenobiótico para evaluar el flujo sanguíneo hepático (Caesar, 1961). El verde de indocianina es una sustancia con una alta relación de extracción hepática y con una eliminación biliar exclusiva, sin recirculación entero-hepática. No es tóxica para el hombre, pero presenta excepcionalmente reacciones anafilácticas tras su administración intravenosa, en bolus o en perfusión lenta (Carski, 1978). En los individuos sanos, el flujo sanguíneo hepático puede calcularse a partir del aclaramiento del verde de indocianina, asumiendo una relación de extracción próxima a uno. Pero en los pacientes cirróticos, donde la determinación del flujo hepático puede resultar más útil, la relación de extracción suele ser más baja lo que complica la realización e interpretación de la prueba. En cirrosis hepática el verde de indocianina es simplemente una sustancia con una relación de extracción media-alta (Branch, 1976a). En estos pacientes, la eliminación del verde de indocianina está limitada por el aclaramiento intrínseco y poco influida por el flujo sanguíneo hepático (Huet, 1983).

Recientemente, se ha evaluado el pronóstico de la cirrosis hepática en función de los valores de esta prueba (Navasa, 1992).

II.2.2.3.2 Otros

Otras sustancias utilizadas, dentro de este grupo son: Bromosulfaleína (Häcki, 1976), Sorbitol (Zeeh, 1988), Galactosa (Tygstrup, 1964), (Keiding, 1988), Lidocaína (Thompson, 1973), (Huet, 1983), D-Propranolol (Branch, 1976c), (Pessayre, 1978), Verapamilo y otras.

Últimamente ha llamado la atención de los investigadores la formación de un metabolito de la lidocaína, el monoetil glicinexilida (MEGX) como una medida de la función hepática, principalmente para individuos candidatos a trasplante hepático (Oellerich, 1990). Destaca esta prueba por su sencillez en la realización e interpretación, pero debe ser evaluada con un mayor número de pacientes antes de poder obtener conclusiones definitivas.

II.2.2.4 Parámetros Farmacocinéticos

La determinación, cuantificación e interpretación de las alteraciones hepáticas a través del estudio farmacocinético de xenobióticos, no está exento de dificultades y exige, además, un riguroso conocimiento de los modelos farmacocinéticos, así como del significado de los parámetros que se utilizan habitualmente para describir los procesos de eliminación de estas sustancias.

II.2.2.4.1 Aclaramiento

De todas los parámetros farmacocinéticos de eliminación, el aclaramiento es la más importante y usual para aplicaciones clínicas que implican medir un proceso de eliminación. La razón está en que cambia linealmente con respecto a la eliminación. Además, su cálculo se puede realizar sin necesidad de ajustar los datos experimentales a un modelo farmacocinético determinado.

El aclaramiento total (CI) puede definirse como el factor de proporcionalidad entre la velocidad de eliminación de un fármaco y su concentración sérica o plasmática:

$$CI = \frac{\text{Velocidad de eliminación}}{\text{concentración}} \quad (1)$$

Las unidades del aclaramiento son igual que las del flujo, es decir, volumen/tiempo.

El aclaramiento total o sistémico es igual a la suma de todos los procesos de eliminación o, lo que es lo mismo, la eliminación a través de todas las rutas, pero no indica el sitio o velocidad del proceso limitante (Rowland, 1989).

II.2.2.4.1.1 Aclaramiento hepático

Aunque el metabolismo de fármacos se realiza en muchos órganos, el hígado es el que

tiene mayor capacidad metabólica.

La medida cuantitativa más directa de la capacidad del hígado para eliminar un fármaco es el aclaramiento hepático, que incluye el aclaramiento excretor biliar y el aclaramiento metabólico hepático.

La depuración o eliminación de un fármaco o xenobiótico por el hígado depende del flujo sanguíneo hepático y de la velocidad de extracción hepática. La velocidad de extracción es:

$$\text{Velocidad de extracción} = Q_H \cdot (c_p - c_h) \quad (2)$$

donde Q_H es el flujo hepático total, suma del flujo hepático portal y del flujo arterial hepático, cuyos valores medios son 1050 y 300 ml/min respectivamente; c_p es la concentración de la sustancia (fármaco) en la sangre aferente, y c_h es la concentración en las venas hepáticas.

Si la velocidad de extracción del fármaco está relacionada con la velocidad con la que el fármaco llega al órgano, un parámetro usual es la **Relación de extracción, E**:

$$E = \frac{\text{velocidad de extracción}}{\text{velocidad de llegada}} = \frac{c_p - c_h}{c_p} \quad (3)$$

Por definición el **aclaramiento hepático** será:

$$\text{Aclaramiento hepático } (Cl_H) = Q_H \cdot \frac{c_p - c_h}{c_p} = Q_H \cdot E_H \quad (4)$$

siendo E_H la relación de extracción hepática.

Se puede considerar que las variaciones en la extracción hepática de un fármaco están relacionadas con tres parámetros:

- a) Flujo sanguíneo hepático
- b) Unión a proteínas plasmáticas
- c) Eliminación intrahepática: metabolismo o biotransformación

a) Flujo sanguíneo hepático

Hay al menos cinco procesos que pueden alterar la capacidad del hígado para depurar o eliminar un xenobiótico de la sangre, tal como muestra la figura II.1:

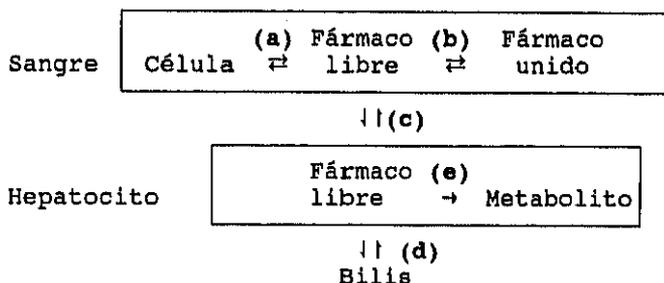


Fig. II.1

Sin embargo, cuando la relación de extracción se aproxima a uno, el xenobiótico debe haber tenido suficiente tiempo para separarse de las células sanguíneas, disociarse de las proteínas plasmáticas, pasar al interior de las células hepáticas, ser metabolizado por alguna enzima y/o secretarse por la bilis. Esto significa que el aclaramiento sanguíneo se aproxima a su valor máximo, que es el flujo sanguíneo hepático. En estas condiciones, la eliminación está limitada por el flujo sanguíneo hepático y por la velocidad de los demás procesos representados en la figura II.1. Los cambios en el flujo sanguíneo influyen sobre el aclaramiento y sobre la velocidad de extracción, pero no sobre la relación de extracción (Tabla II.6). Estos xenobióticos (o fármacos) se suelen llamar "flujo dependientes".

Tabla II.6.- Relación del flujo sanguíneo hepático con el aclaramiento y la relación de extracción hepática.

Xenobiótico	Flujo sanguíneo	Relación de extracción	Aclaramiento
Alta relación de extracción	↑	↔	↑
	↓	↔	↓
Baja relación de extracción	↑	↓	↔
	↓	↑	↔

↑ = Sube; ↓ = Baja; ↔ = No se modifica
(Tomado de Rowland, 1989)

Al contrario, cuando el xenobiótico tiene una baja relación de extracción (próxima a cero), cualquier proceso del esquema de la figura II.1 puede ser el paso limitante de la velocidad de eliminación: Podría ser una reacción enzimática lenta (proceso e); un escaso transporte biliar (proceso d); mal acceso al interior de las células hepáticas (proceso c); una lenta difusión desde el interior de las células sanguíneas (proceso a) o una mala disociación como consecuencia de fuertes uniones a proteínas plasmáticas (proceso b). Podría deberse también a una combinación de varios de estos procesos.

Cuando la relación de extracción de un fármaco es baja, por definición, la concentración venosa es prácticamente idéntica a la concentración arterial. Esto implica que las alteraciones en el flujo sanguíneo hepático no afectan a la concentración del xenobiótico dentro del hígado ni a su velocidad de eliminación ni al aclaramiento. De la ecuación 4, se deduce que la relación de extracción hepática varía inversamente con el flujo sanguíneo cuando el aclaramiento es constante (Rowland, 1989).

Basándose en la relación de extracción, los xenobióticos -fármacos y metabolitos- se pueden dividir en tres categorías (Tabla II.7):

Tabla II.7.- Extracción hepática* de algunos fármacos y metabolitos

RELACION DE EXTRACCION		
BAJA (<0.3)	INTERMEDIA (0.3-0.7)	ALTA (>0.7)
Acido Salicílico	Aspirina	Alprenolol
Acido Valproico	Codeína	Desimipramina
Caféina	Quinidina	Doxepina
Carbamazepina	Nortriptilina	Isoproterenol
Diazepam		Lidocaína
Digitoxina		Meperidina
Fenitoína		Morfina
Fenobarbital		Nitroglicerina
Procainamida		Pentazocina
Teofilina		Propoxifeno
Tolbutamida		Propranolol
Warfarina		

*al menos el 30% del xenobiótico es eliminado por esta ruta
(Tomado de Rowland, 1989 mod.)

A)-Xenobióticos muy extraíbles por el hígado: Aquellos cuya relación de extracción es superior a 0.7

B)-Xenobióticos poco extraíbles por el hígado: Aquellos con baja relación de extracción (menor de 0.3)

C)-Xenobióticos intermedios: Con una relación de extracción entre 0.3 y 0.7

En los fármacos que tienen una **alta relación de extracción hepática**, tanto el aclaramiento como la vida media son sensibles a los cambios en el flujo e insensibles a las variaciones de la actividad enzimática o metabólica; estas sustancias, al sufrir un efecto de primer paso, tanto éste como la biodisponibilidad pueden verse afectados por cambios en el **aclaramiento intrínseco**, que es la máxima capacidad del hígado para depurar de forma irreversible el fármaco, por todos los caminos, en ausencia de limitaciones de flujo.

La relación entre aclaramiento hepático, flujo y aclaramiento intrínseco viene definida por:

$$Cl_H = Q \cdot \frac{Cl_i}{Cl_i + Q} \quad (5)$$

donde Cl_i es el aclaramiento intrínseco y Cl_H es el aclaramiento hepático.

La relación de extracción, el aclaramiento intrínseco y el flujo hepático están relacionados por la siguiente expresión:

$$Cl_i = \frac{Q \cdot E}{1 - E} \quad (6)$$

donde E es la relación de extracción.

Los fármacos con una **baja extracción hepática**, debido a su bajo aclaramiento intrínseco en relación al flujo sanguíneo hepático, tienen las siguientes características farmacocinéticas: El aclaramiento hepático y la vida media son independientes del flujo, pero altamente sensibles a la capacidad del hígado para metabolizar el fármaco (aclaramiento hepático), que puede estar influido por diferencias interindividuales, inducción o inhibición

enzimática y por diversos estados patológicos del propio órgano. Existirá un pequeño o despreciable efecto de primer paso, y la mayor parte de la dosis oral administrada alcanzará intacta la circulación sistémica.

Las variaciones en el aclaramiento intrínseco no afectan significativamente a la biodisponibilidad. Esto viene reflejado por la siguiente ecuación:

$$Cl_H = Q \cdot \frac{f_b \cdot Cl_i}{Q + (f_b \cdot Cl_i)} \quad (7)$$

donde, Cl_H es el aclaramiento hepático
 Q = la cantidad de sangre que llega al hígado
 Cl_i = aclaramiento intrínseco
 f_b = fracción de fármaco no unido a proteínas

Como en este tipo de fármacos, el producto $f_b \cdot Cl_i$ es mucho menor que el flujo, el aclaramiento hepático viene definido por:

$$Cl_H = f_b \cdot Cl_i \quad (8)$$

Según esto, el aclaramiento se verá afectado por cambios en la fracción libre (f_b) y por cambios en la capacidad intrínseca del aclaramiento por parte del hígado.

No obstante, aunque debiera esperarse que los cambios en el flujo no debieran alterar el aclaramiento de los fármacos con baja relación de extracción, hay mecanismos fisiológicos que pueden variar el aclaramiento de estos fármacos, como por ejemplo mecanismos de control de la homeostasia y una serie de cofactores como el oxígeno o los sulfatos, que ven limitado su aporte al hígado con los déficit de flujo (Rowland, 1989).

b) Unión a proteínas plasmáticas

Generalmente se asume que sólo la fracción de fármaco que circula libre -sin unir a proteínas plasmáticas- es capaz de ser extraída por el hígado, pero algunos ejemplos indican

que la avidez del proceso de extracción hepática es suficientemente importante como para que el fármaco pueda ser liberado de sus lugares de unión a su paso por el hígado (Wilkinson, 1975).

En cuanto a la extracción hepática, en relación con las proteínas plasmáticas, cabe diferenciar dos tipos de fármacos: los que presentan una alta y los que tienen una baja relación de extracción.

El hígado es capaz de eliminar totalmente un fármaco que presente una relación de extracción alta, a pesar de que se encuentre unido a células sanguíneas o a proteínas plasmáticas. Aunque, en general, un aumento en la fracción libre -fracción no unida a células sanguíneas o proteínas plasmáticas- ayuda al aclaramiento de los fármacos, en este caso -alta relación de extracción- el fármaco se elimina completamente, al margen de su fracción libre. Por eso, ni la relación de extracción ni el aclaramiento se alteran por los cambios en la unión del fármaco.

Para un fármaco con una baja relación de extracción ocurre lo contrario. Esta relación entre el aclaramiento y la unión a proteínas plasmáticas es debida a que solamente el fármaco libre es capaz de atravesar las membranas celulares y, a que la disminución de concentración a través del hígado es pequeña. La concentración de fármaco libre en las venas hepáticas es prácticamente idéntica a la de la sangre aferente (c_u). En este caso, la velocidad de eliminación del fármaco está directamente relacionada con la concentración de fármaco libre en el plasma, excepto, quizás, si la disociación del fármaco de las proteínas plasmáticas -proceso *b* de la Fig.II. 1- es el paso limitante de la velocidad de eliminación. Si la eliminación por metabolismo o por transporte biliar (procesos *d* y *e*) es lenta y la distribución dentro del hepatocito (proceso *c*) es rápida, la concentración dentro del hepatocito, disponible para el transporte biliar o la actividad enzimática, es la fracción libre, c_u . Si los procesos *d* y *e* son rápidos, pero el proceso *c* es lento, la concentración que determina la eliminación es igualmente la fracción libre, debido a que el proceso limitante es la difusión dentro de las células hepáticas que, a su vez depende de la concentración de fármaco libre en plasma. Según esto, si la relación de extracción es baja, la velocidad de extracción depende de la concentración de fármaco libre:

$$\text{Velocidad de eliminación} = Cl_u \cdot c_u \quad (9)$$

donde Cl_u es el aclaramiento basado en la concentración de fármaco libre y c_u es la concentración de fármaco libre.

Aquí, el término de proporcionalidad, aclaramiento basado en la concentración de fármaco libre (Cl_u), es una medida de la actividad hepatocelular o permeabilidad. Si expresamos la velocidad de eliminación hepática en relación a la concentración plasmática, es evidente que el aclaramiento hepático plasmático variará proporcionalmente con los cambios en la fracción libre del plasma:

$$Cl_H = Cl_u \cdot f_u \quad (10)$$

donde f_u es la fracción libre plasmática. Por ejemplo, si el valor de f_u y el de el aclaramiento hepático varían al doble, el aclaramiento Cl_u conservará su valor.

Las mismas conclusiones se pueden extraer al relacionar el aclaramiento hepático sanguíneo con la fracción libre de fármaco en sangre f_b , para fármacos con una baja relación de extracción.

La relación de extracción, el flujo sanguíneo y la fracción libre de fármaco están relacionadas por la siguiente ecuación:

$$E = \frac{f_b \cdot Cl_{i,f_b}}{Q + (f_b \cdot Cl_{i,f_b})} \quad (11)$$

donde Cl_{i,f_b} es el aclaramiento intrínseco de la fracción libre.

Por todo ello, la cuantificación del metabolismo de distintos fármacos "in vivo" en diferentes especies animales, generalmente se ha limitado al cálculo de la vida media o de la constante de eliminación. El aumento de conocimientos sobre este problema ha incrementado la complejidad del mismo, debiendo tenerse en cuenta otros parámetros, en especial, los diferentes tipos de aclaramiento (Williams, 1983).

Para tratar de soslayar estas limitaciones, y realizar el estudio de los diferentes aclaramientos es muy utilizado el **modelo de perfusión limitada** de eliminación hepática de fármacos, propuesto por Wilkinson (1975) y actualmente muy sustentado en datos experimentales tanto "in vivo" como "in vitro" con una gran variedad de fármacos, especies animales y metodologías para describir los factores que alteran el flujo hepático y la extracción (Wilkinson 1975, 1976), (Blaschke, 1977), (Williams 1980, 1983).

Este modelo, mediante tres parámetros: flujo hepático, aclaramiento intrínseco y unión del fármaco a elementos plasmáticos, celulares y tisulares asociados con medidas fisiológicas y procesos bioquímicos, da una aproximación conceptual y funcional del proceso de eliminación hepática.

c) Eliminación intrahepática: Biotransformación

Cuando los fármacos son introducidos en el organismo, la mayoría de ellos son metabolizados y transformados parcial o totalmente en otras sustancias. Debido a su ubicación en la trayectoria de la vena porta y a la importancia de su dotación enzimática, el hígado juega un papel primordial en el metabolismo de los fármacos, aunque esta biotransformación puede también realizarse, en menor proporción, en otros órganos tales como riñón, pulmón, intestino, suprarrenales y otros tejidos, así como en la propia luz intestinal. La biotransformación puede dividirse en dos etapas: Fase I y fase II.

Durante la fase I los medicamentos sufren una serie de reacciones, generalmente de oxidación, catalizadas por el sistema enzimático del citocromo P-450, aunque también pueden ser de reducción e hidrólisis.

La fase II consiste en una conjugación del xenobiótico y/o de sus metabolitos para formar compuestos más solubles y permitir su eliminación por vía biliar o urinaria (Geneve, 1990).

Las reacciones que sufren los fármacos se pueden clasificar, por tanto en: *oxidación*,

reducción, hidrólisis y conjugación. Las reacciones de oxidación tienen lugar preferentemente en la fracción microsomal del hígado y de otros tejidos y, en menor grado, en la mitocondrial; las de reducción en la fracción microsomal; las de hidrólisis en el plasma y en diversos tejidos; las de conjugación se dan en el hígado y en otros tejidos.

Una determinada molécula puede ser transformada simultáneamente en varios sitios, o bien sufrir diversas transformaciones en sucesivos pasos a través del hígado. Como resultado de esto, es frecuente que un fármaco origine un elevado número de metabolitos. La variedad de los mismos y la concentración de cada uno de ellos dependerá de la dotación enzimática del individuo.

c.1) El sistema oxidativo del microsoma hepático: sistema de monooxigenasa u oxidasas de función mixta

Es, con mucho el sistema más utilizado en el metabolismo de fármacos, tanto por la variedad de reacciones oxidativas a que da lugar como por el número de fármacos y xenobióticos que lo utilizan. El sistema se encuentra en la fracción microsomal del hígado, que corresponde a las membranas que conforman el retículo endoplásmico; por tanto, para llegar hasta esas membranas e interactuar con las enzimas que allí se encuentran, las sustancias deben poseer una cierta lipofilia. Las enzimas que intervienen son oxigenasas que se encuentran adosadas a la estructura membranosa del retículo. Utilizan una molécula de oxígeno, pero sólo emplearán un átomo para la oxidación del sustrato -por eso se llaman monooxigenasas- mientras que el otro oxígeno será reducido para formar agua -por eso se llaman oxidasas mixtas- merced a la presencia de un donante externo de electrones.

Las actividades del sistema monooxigenasa requieren la integridad de un flujo de electrones que es canalizado por la NADPH-citocromo P-450 reductasa desde el NADPH hasta un complejo formado por el sustrato o fármaco con una hemoproteína denominada citocromo P-450. (Fig. II.2)

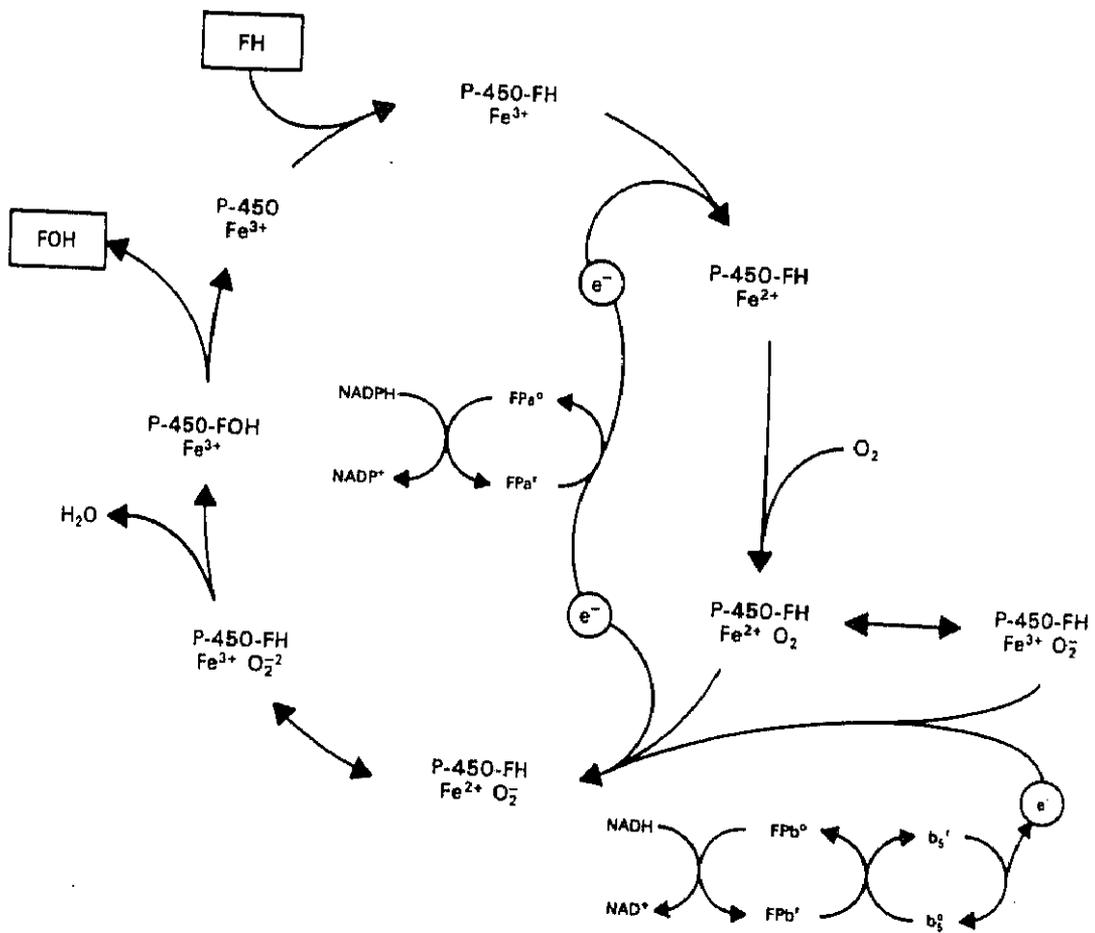


Fig. II.2 Flujo electrónico en el sistema microsomal de oxidación de fármacos

(Tomado de Florez, 1987)

-El citocromo P-450, así denominado porque cuando se combina con el monóxido de carbono absorbe a 450 nm, se encuentra abundantemente a nivel microsomal en una relación de 10-100 moléculas por 1 de reductasa.

En ocasiones los electrones son cedidos por el NADH mediante la actividad de la NADH-citocromo b_5 reductasa, que transfiere del NADH al citocromo b_5 . El fármaco en forma reducida se une primeramente al citocromo P-450 oxidado (Fe^{3+}); después es reducido el citocromo P-450 (Fe^{2+}) por la reductasa, y el complejo fármaco-citocromo reducido

interactúa con el O₂ molecular para formar un complejo terciario, el ferrooxicitocromo P-450-sustrato. Este recibe un segundo electrón para formar uno o más complejos no bien identificados. Dentro del complejo, un átomo de oxígeno es transferido al sustrato para oxidarlo, y el otro reacciona con dos protones para formar agua; el sustrato oxidado queda liberado, y el citocromo P-450 se regenera en forma férrica.

El citocromo P-450 consiste en un numeroso grupo de isoenzimas o formas P-450, que poseen especificidades superponibles hacia muy diversos sustratos. Esto explica el amplísimo espectro de xenobióticos y fármacos abordable por el sistema de monooxigenasas. En principio, este sistema se encarga de metabolizar abundantes y estructuralmente variados productos endógenos: esteroides, hormona luteinizante, prostaglandinas, etanol, ácidos grasos, aminas biógenas, feromonas. Al mismo tiempo, posee una gran capacidad para metabolizar un número extraordinariamente elevado de fármacos y xenobióticos: pesticidas, carcinógenos y otras sustancias químicas contaminantes del ambiente. Son los propios productos químicos los que estimulan o favorecen la formación o producción de las diversas formas o isozimas P-450. En efecto, la exposición a determinados productos exógenos aumenta la actividad metabolizante de unos determinados sustratos y no de otros, debido al incremento de determinadas y específicas formas o clases de citocromo P-450. Esto significa que estos isoenzimas se encuentran sometidos a mecanismos de control independientes. Algunos de ellos funcionan fisiológicamente a un determinado nivel, que puede ser incrementado o inducido por la influencia de un producto exógeno. Otros, en cambio, pueden no existir en situaciones de control, y sólo aparecer cuando el organismo entra en contacto con un producto químico exógeno determinado.

Esta variabilidad de formas expresa un mecanismo polivalente genéticamente controlado, y explica la variabilidad extraordinaria en la capacidad metabolizante que existe entre una especie y otra y, dentro la misma especie, entre diversos individuos.

Las modernas técnicas de DNA recombinante están consiguiendo diferenciar a los distintos isozimas presentes en una especie, identificar su origen génico y su posición en los cromosomas, y dilucidar los mecanismos por los que los fármacos son capaces de inducir unas u otras formas del citocromo P-450.

Las reacciones oxidativas que puede catalizar el citocromo P-450 son muy variadas, pudiendo afectar a diversos radicales. Las principales son: hidroxilación de cadenas alifáticas; hidroxilación de un anillo aromático; desalquilación oxidativa de grupos alquilo asociados a N, O y S; desaminación oxidativa; formación de sulfóxidos; desulfuración: sustitución de un átomo de azufre por uno de oxígeno; oxidación e hidroxilación de aminas; y epoxidación.

c.2) Otras reacciones metabólicas de fármacos

Otras reacciones relacionadas con el metabolismo de fármacos o xenobióticos son las siguientes:

1) Oxidaciones extramicrosomales: Tienen lugar generalmente a nivel mitocondrial.

2) Reducciones: Tienen lugar en la fracción microsomal hepática, en otros tejidos, y en las bacterias intestinales.

3) Hidrólisis: Son catalizadas por hidrolasas que se encuentran ampliamente distribuidas por el plasma y los tejidos. Según el carácter del enlace hidrolizado pueden ser: estererasas, amidasas, glicosidasas y peptidasas.

4) Reacciones de conjugación: Son procesos en los que el organismo incorpora al fármaco pequeñas moléculas mediante la acción de enzimas transferasas. En función de la molécula incorporada, estas reacciones pueden ser:

-glucuronidación: consiste en la conjugación del átomo C-1 del ácido glucurónico con un fármaco mediante la acción de las UDP-glucuroniltransferasas. La reacción tiene lugar principalmente en el hígado, a nivel de la fracción microsomal, aunque puede haber, en menor grado, en otros tejidos. La formación de glucurónidos es la reacción de conjugación más frecuente en los mamíferos.

-acilación: consiste en la incorporación de un radical acilo a los radicales amino o carboxilo de los fármacos.

-conjugación con glutatión

- conjugación con radicales sulfato
- metilación
- conjugación con ribósidos y ribósidos-fosfatos
- otras conjugaciones: Otras moléculas que pueden formar conjugados con los fármacos son la glicocola, la ornitina y el radical glutamil (Flórez, 1987).

Según ha sido descrito en el apartado *a* (II.2.2.4.1.1), cuando el aclaramiento depende del flujo sanguíneo hepático, hay tanta actividad enzimática en las células hepáticas que pequeños cambios en esta actividad no alterarán el aclaramiento. Al contrario, si la actividad enzimática es el paso limitante en la velocidad de eliminación, entonces el aclaramiento será bajo y directamente proporcional a la actividad enzimática, por lo que su valor se verá alterado por procesos de inducción o inhibición enzimática, pero no por variaciones en el flujo sanguíneo hepático.

Una característica típica de las reacciones enzimáticas es su capacidad limitada de llevar a cabo el proceso. Existe una velocidad máxima a la que puede metabolizarse un fármaco determinado. Si esa velocidad máxima se da con concentraciones de fármaco habitualmente usadas en terapéutica, decimos que la farmacocinética de esa sustancia es **no lineal**, ya que su aclaramiento depende de la concentración presente de fármaco. Por el contrario, suele suceder con la mayoría de fármacos que las concentraciones a las que se saturan los sistemas enzimáticos responsables de su eliminación suelen estar muy por encima de su intervalo terapéutico por lo que su aclaramiento no depende de la concentración. Hablamos en este caso de farmacocinética **lineal**.

La mayoría de nuestros conocimientos sobre la cinética enzimática proceden de estudios "in vitro" en los que las concentraciones de sustrato, enzima y cofactores están controladas (Rowland, 1991).

II.2.2.4.2 Vida Media y Volumen Aparente de Distribución

Durante la fase de distribución, los cambios en la concentración de un fármaco en el plasma indican principalmente los movimientos del fármaco dentro del organismo más que

la eliminación de la sustancia. Posteriormente, cuando se alcanza el equilibrio de distribución del fármaco, entre el plasma y los tejidos, la disminución de concentración en la sangre, refleja una disminución proporcional de la concentración en los tejidos y, por eso, del fármaco en el organismo. A partir de este momento, el cuerpo entero se comporta cinéticamente como un sólo compartimento, y la caída de concentraciones del fármaco en el plasma se debe a la eliminación de esta sustancia del organismo. Debido a esto, esta fase se conoce generalmente como *fase de eliminación*: La fase de eliminación se caracteriza farmacocinéticamente por dos parámetros: *la vida media ($t_{1/2}$)* y *el volumen aparente de distribución (V)*. La vida media es el tiempo necesario para que, tanto la concentración plasmática como la cantidad de un fármaco, se reduzcan a la mitad de su valor. La concentración plasmática alcanzada inmediatamente después de terminar la fase de distribución depende, para una sustancia determinada, de la dosis administrada y de la cantidad distribuida en los distintos tejidos del organismo. Para describir la "extensión" del proceso de distribución se recurre al volumen aparente de distribución. Sin embargo este parámetro no da información acerca de la situación del medicamento en el organismo ni tiene una realidad fisiológica, por eso la denominación de aparente. Relaciona la concentración plasmática (más que la sanguínea) de un fármaco con la cantidad total del mismo en el organismo que, en esta fase de eliminación, se comporta idealmente como un sólo compartimento, de volumen V :

$$\text{Volumen de distribución } (V) = \frac{\text{Cantidad en el organismo } (A)}{\text{Concentración plasmática } (c)} \quad (12)$$

La caída de concentraciones plasmáticas, en este volumen, durante la fase de eliminación, puede ser descrita mediante una ecuación de una línea recta (fig. II.3), resultante de representar los logaritmos de las concentraciones del fármaco con respecto al tiempo:

$$\ln c = \ln c_0 - K_{el} \cdot t \quad (13)$$

donde: c = concentración plasmática del fármaco
 K_{el} = Constante de proporcionalidad o de eliminación, que es independiente de la concentración del fármaco
 c_0 = Es la concentración a tiempo cero, calculada mediante esta ecuación
 t = tiempo

En la práctica, cuando la administración es por vía intravenosa rápida (bolus), c_0 se calcula por extrapolación de la línea recta resultante de representar el logaritmo de las concentraciones del fármaco frente al tiempo. Cuando c_0 se multiplica por el volumen de distribución (V), el valor resultante es la dosis administrada (ecuación 14):

$$Dosis = V \cdot c_0 \quad (14)$$

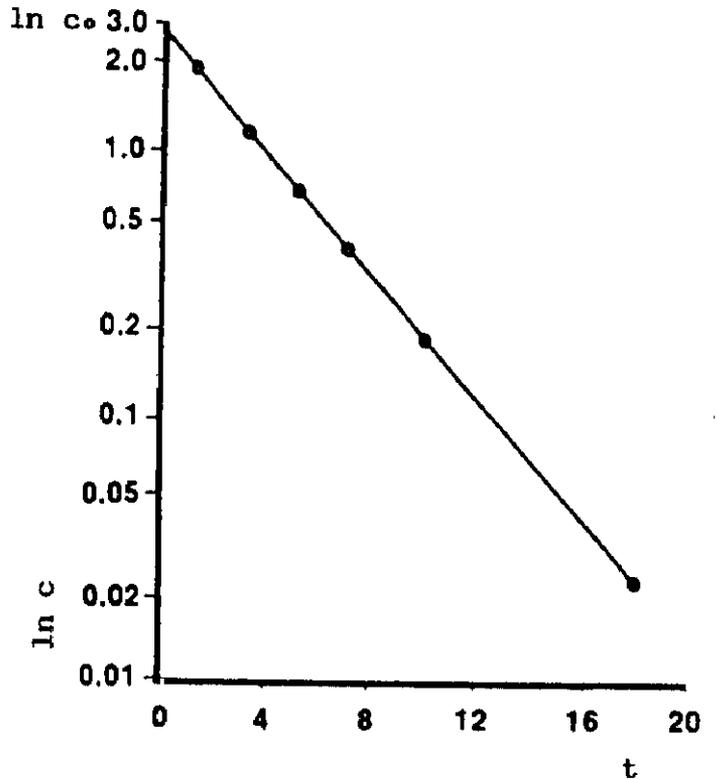


Fig. II.3 Representación semilogarítmica de las concentraciones con respecto al tiempo

Tomando antilogaritmos en la ecuación 13, nos queda:

$$c = c_0 \cdot e^{-K_d \cdot t} \quad (15)$$

y multiplicando por el volumen de distribución,

$$A = Dosis \cdot e^{-K_d \cdot t} \quad (16)$$

donde A es la cantidad de fármaco en el organismo.

A partir de las ecuaciones 15 y 16 puede calcularse la concentración o la cantidad de fármaco en el organismo en cualquier momento. Cuando la caída de concentraciones plasmáticas de un fármaco, o su cantidad en el organismo, puede ser descrito por un solo

término exponencial, según muestran las ecuaciones 15 y 16, se dice que el proceso farmacocinético es *monoexponencial*. Ya que, según hemos definido anteriormente, la vida media es el tiempo necesario para que la concentración disminuya a la mitad, una vez que se han completado los procesos de distribución, de la ecuación 15 se deduce:

$$0.5 = e^{-K_{el} \cdot t_{1/2}} \quad (17)$$

donde $t_{1/2}$ es la vida media de eliminación del fármaco y, por tanto:

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K_{el}} \quad (18)$$

Es frecuente usar el aclaramiento (Cl) como una medida de la eficacia del proceso (II.2.2.4.1). En una dosis única, puede ser calculado como:

$$Cl = \frac{D}{ABC} \quad (19)$$

donde ABC es el Area Bajo la Curva resultante de representar las concentraciones de fármaco frente al tiempo, extrapolando a infinito (fig. II.4).

Las dos variables fisiológicas V y Cl determinan la pendiente de la recta (ecuación 13) o constante de eliminación K_{el} :

$$K_{el} = \frac{Cl}{V} \quad (20)$$

K_{el} se suele expresar más frecuentemente como la vida media, por lo que a partir de la ecuación 18 se deduce fácilmente:

$$t_{1/2} = \frac{V \cdot 0.693}{Cl} \quad (21)$$

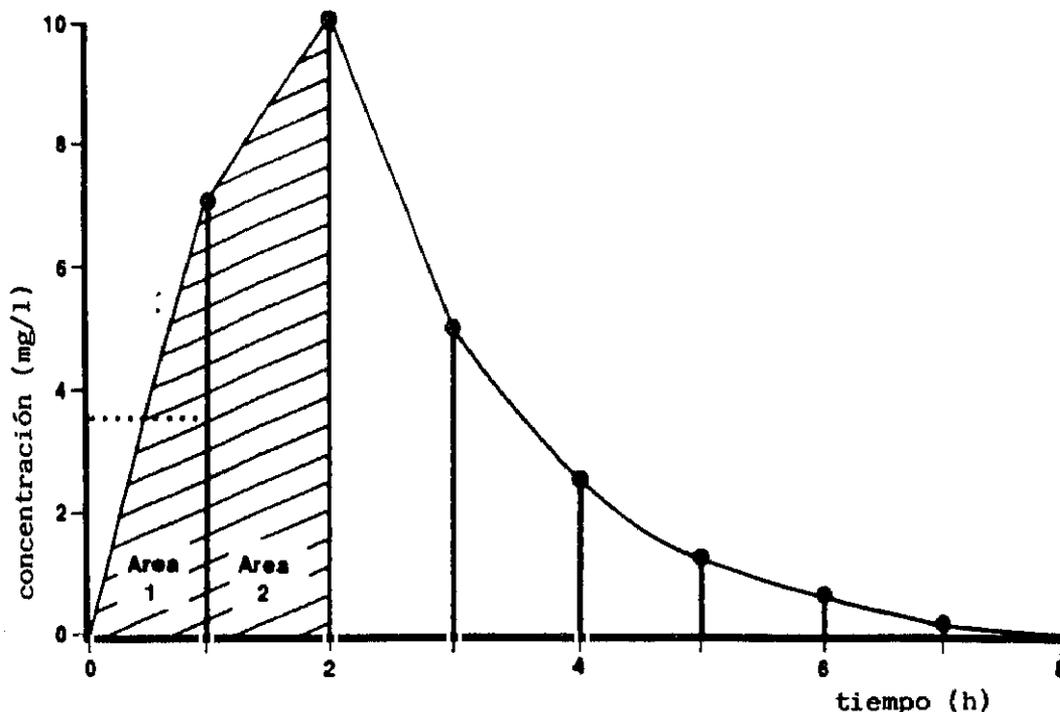


Fig. II.4 Area Bajo la Curva de un medicamento con fase de absorción

(Tomado de Rowland, 1991)

Por esto, la vida media es una variable *"mixta"*, ya que su valor puede cambiar con cualquier factor que afecte al volumen de distribución o al aclaramiento. Hay ejemplos de fármacos en los que la enfermedad hepática puede afectar sólo al volumen de distribución -antipirina- (Andreasen, 1974) o, además de éste, también al aclaramiento -propranolol (Pessayre, 1978) y diazepam (Branch, 1976b)-. No se debe, por tanto, interpretar los cambios en la vida media al margen de las características farmacocinéticas de una sustancia determinada.

En el caso particular de un fármaco cuyo volumen de distribución no cambie con la enfermedad hepática, la vida media cambiará de acuerdo con el aclaramiento, por lo que a menudo ha sido usada como un indicador de la "capacidad metabólica del hígado". La relación entre la vida media y el aclaramiento es inversa, es decir, cuando una sube, el otro baja y viceversa. El porcentaje de cambios en la vida media con respecto a los controles, subestimarán los incrementos en la capacidad metabólica hepática, y sobreestimarán las

disminuciones en esta capacidad. La relación inversa entre aclaramiento y vida media, se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{Cl_{inicial} - Cl_{final}}{Cl_{inicial}} = \frac{t_{1/2\ final} - t_{1/2\ inicial}}{t_{1/2\ final}} \quad (22)$$

Aunque esta ecuación es correcta, es conceptualmente más fácil emplear la constante de eliminación K_{el} que la vida media $t_{1/2}$, cuando se comparan velocidades de eliminación.

A pesar de las limitaciones en la interpretación del valor de la vida media de un fármaco, debido a lo intuitivo y fácil comprensión de este valor, se han publicado un gran número de trabajos sobre cómo influye la enfermedad hepática en la vida media de diversos xenobióticos y medicamentos, algunos de los cuales han sido descritos en los apartados II.2.2.1 y II.2.2.2. Los problemas derivados del empleo de la vida media en vez del aclaramiento han sido revisados por varios autores (Wilkinson, 1976), (George, 1979), (Williams, 1980), (Sultatos, 1980).

II.3 CAFEÍNA

II.3.1 ORIGEN

La cafeína pertenece al grupo farmacológico de las xantinas, cuyos representantes naturales son, además de la cafeína, la teofilina y la teobromina. Estas sustancias existen al estado natural en una serie de plantas originarias de distintas regiones del mundo: café, té, cacao, mate, kola, etc.

El café es la semilla madura desecada de la *Coffea arabica* o cafeto, que se cultiva en varios países de Sudamérica -Brasil, Colombia, etc.- y Centroamérica, y en Indonesia. La semilla una vez tostada origina el café y contiene alrededor del 1.5 por ciento de cafeína, y además, cafeol, aceite esencial que le da su aroma característico, así como un tanino - cuatro por ciento- no bien identificado. El café, bebida preparada en la forma habitual - infusión y percolación- contiene como promedio por taza (de 150 ml), 90 mg de cafeína,

aunque este dato es muy variable en los distintos países y, dentro de estos, en distintas regiones (Abbott, 1986), (Weidner, 1985), (Lelo, 1986b), (Friesen, 1986), (Gardiner, 1986), (Pfeifer, 1988).

El té es la hoja desecada de la *Camelia (Thea) sinensis*, que se cultiva en China, Japón, Sri Lanka y en Argentina; estas hojas sufren una fermentación previa y luego desecación que da origen al té negro común: Contiene un promedio del 2.5 por ciento de cafeína y pequeñas cantidades de teofilina, además de tanino (15 por ciento). El té bebida es una infusión que, preparada en forma común, contiene por taza (de 150 ml) unos 40 mg de cafeína, aunque este dato es también muy variable en distintos países. (Abbott, 1986).

El cacao es la semilla desecada y fermentada de la *Theobroma cacao*, que se cultiva en Brasil, Centroamérica y Méjico; contiene un 0.4 por ciento de cafeína. El chocolate, bebida preparada en la forma habitual, contiene por taza (de 200 ml) unos 7.5 mg de cafeína (Abbott, 1986).

La kola es la semilla desecada de la *Cola nitida*, que crece en el Africa tropical, en Brasil y las Antillas; dicha semilla contiene un 2 por ciento de cafeína. Una botella de 375 ml de bebida de cola comercial contiene alrededor de 45 mg de cafeína (Abbott, 1986), (Friesen, 1986).

Otras plantas, de menor importancia en nuestra cultura, que contienen cafeína son la yerba mate (*Ilex paraguayensis*) y el guaraná (*Paullinia cupana*).

II.3.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

La cafeína es un derivado trimetilado de la xantina: en concreto, es la 1,3,7 trimetil-xantina. La xantina deriva, a su vez, de la purina -unión de los heterociclos pirimidina e imidazol- siendo la 2,6-dioxipurina. (Fig. II.5).

Esta sustancia, de Peso Molecular 194.2 y fórmula empírica $C_8H_{10}N_4O_2$, se presenta como polvo cristalino blanco o cristales sedosos blancos, fácilmente sublimables, bastante

solubles en agua a ebullición y cloroformo, poco solubles en etanol y éter. Se disuelve en disoluciones concentradas de benzoatos o salicilatos alcalinos. (Farmacopea Europea, II Edición-1988).

II.3.3 IDENTIFICACIÓN (Farmacopea Europea, II Edición-1988)

A. Punto de fusión: De 234 a 239 °C.

B. Se examina por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo. Los máximos de absorción del espectro obtenido con la sustancia que se identifica deben corresponder con la cafeína SQR -Sustancia Química de Referencia- (Farmacopea Europea).

C. A 2 ml de una disolución saturada se añaden 0.05 ml de disolución de yoduro potásico yodada. La disolución permanece límpida. Se añaden 0.1 ml de ácido clorhídrico diluido. Debe formarse un precipitado pardo que se disuelve después de neutralizar con una disolución diluida de hidróxido sódico.

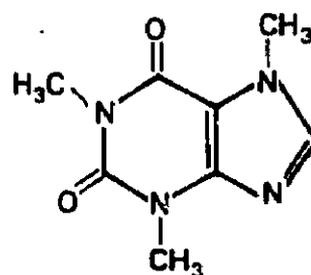
D. En un tubo con tapón esmerilado, se disuelven 10 mg aproximadamente en 0.25 ml de una mezcla de 0.5 ml de acetilacetona y de 5 ml de disolución diluida de hidróxido sódico. Se calienta en baño de agua a 80 °C durante 7 minutos. Se enfría y se añaden 0.5 ml de disolución de dimetilamino-benzaldehído. Se calienta de nuevo en baño de agua a 80 °C durante 7 minutos. Se deja enfriar y se añaden 10 ml de agua. Debe producirse un color azul intenso.

E. Debe satisfacer el ensayo "Pérdida por desecación": Después de calentar en una estufa a 100-105 °C durante 1 hora, 1,00 g de muestra, la pérdida por desecación no debe ser superior al 0.5 por ciento.

F. Debe dar la reacción de las xantinas: A algunos miligramos de la sustancia a examinar o a la cantidad prescrita, se añaden 0.1 ml de disolución concentrada de peróxido de hidrógeno y 0.3 ml de ácido clorhídrico diluido. Se evapora al baño maría a sequedad hasta la obtención de un residuo rojo amarillento. Se añaden 0.1 ml de amoníaco diluido. El residuo se colorea de rojo violeta.

NOTA: El ensayo de identificación B puede omitirse si se realizan los ensayos de

Fig. II.5



CAFEINA

identificación *A*, *C*, *D*, *E* y *F*. Los ensayos de identificación *C*, *D* y *F* pueden omitirse si se realizan los ensayos de identificación *A*, *B* y *E*.

II.3.4 VALORACIÓN (Farmacopea Europea)

Se disuelven, en caliente, 0.170 g de muestra en 5 ml de ácido acético anhidro. Se deja enfriar. Se añaden 10 ml de anhídrido acético y 20 ml de tolueno. Se realiza la valoración de las bases en medio no acuoso, valorando con ácido perclórico 0.1 N y determinando el punto de equivalencia potenciométricamente. 1 ml de ácido perclórico 0.1 N equivale a 19.42 mg de $C_8H_{10}N_4O_2$.

NOTA: Todos los reactivos empleados en estos ensayos deben estar preparados según las normas de la Farmacopea Europea en su capítulo "Reactivos".

II.3.5 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN

Los métodos más antiguos (Axelrod, 1953) para cuantificar la cafeína en materiales biológicos consistían en una extracción con cloroformo, seguida de la determinación de cafeína por el contenido en nitrógeno del extracto. Otro método consistía en la reacción coloreada con murexida. Posteriormente se optimizaron distintos métodos espectrofotométricos, consistentes en general en una extracción orgánica seguida de la medición de la densidad óptica en un espectrofotómetro a 273 μm (Axelrod, 1953). Estos métodos tienen hoy solamente un interés histórico.

Otros métodos utilizados han sido: el inmunoanálisis de fluorescencia polarizada (FPIA) utilizando el reactivo de teofilina de Laboratorios ABBOTT, pero esta técnica ha sido objeto de controversia (Turnbull, 1984), (Dodge, 1985), (Wilson, 1985); la cromatografía en capa fina, que permite separar distintos metabolitos (Tarrus, 1986) (Gorosdicher, 1986); la cromatografía a través de resinas de intercambio iónico, que también permite resolver algunos metabolitos (Cornish, 1957).

En la actualidad, las determinaciones de cafeína y derivados en distintos materiales

biológicos, se realizan fundamentalmente mediante tres métodos: Enzimoimmunoanálisis, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución. Recientemente, la microelectroforesis capilar también empieza a utilizarse para la cuantificación de cafeína en matrices complejas, como son los fluidos biológicos (Lux, 1990), (Schlabach, 1991).

II.3.5.1 Enzimoimmunoanálisis

Consiste en un procedimiento automatizado desarrollado por EMIT[®]. Utiliza dos reactivos, *A* y *B*. El reactivo *A* contiene anticuerpos de ovino contra la cafeína, NAD⁺, glucosa 6-fosfato, conservantes y diluyentes, todo ello en una solución de Tris HCl 55 Mm a pH 5.2. El reactivo *B* contiene cafeína químicamente acoplada a glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, un estabilizador, conservantes y diluyentes, en una solución de Tris HCl 55 Mm a pH 6.2. Los análisis se pueden realizar en distintos equipos automatizados que posean espectrofotómetro (las lecturas se realizan a 340 nm) y procesador matemático, como por ejemplo el Autolab 5000 de Syva, el Cobas Bio, etc. (Ou, 1984), (Zysset, 1984) (Jost, 1985, 1987), (Varagnolo, 1989).

II.3.5.2 Cromatografía de gases

Aunque existe una gran variedad en las técnicas usadas de cromatografía de gases, en general se emplea una extracción orgánica previa con estándar interno, columnas capilares de sílice, un detector de ionización de llama nitrógeno fósforo (FID N-P) o de ionización de llama, siendo helio el gas portador (10 ml/min) y la temperatura de detección unos 300 °C. (Demas, 1977), (Statland, 1976), (Cohen, 1978), (Wang, 1985), (Joeres, 1988).

II.3.5.3 Cromatografía líquida de alta resolución

Es la técnica más utilizada en los últimos años para la cuantificación de cafeína y sus metabolitos en diferentes fluidos biológicos. En general, se prefiere la fase reversa (aquella en la que la fase móvil es de naturaleza polar) a la normal (la que tiene fase móvil apolar), aunque esta última puede presentar ventajas cuando se trata de cuantificar junto con la cafeína los metabolitos (Midha, 1977), (Zysset, 1984), (Wahlländer, 1985a), ya que con la fase

reversa es difícil separar algunos metabolitos que son muy parecidos estructuralmente, por ejemplo, que sólo se diferencian en la posición de un grupo metilo dentro del anillo de la xantina.

Aunque existe una gran variedad de técnicas publicadas que utilizan la fase reversa, presentan algunas coincidencias en la metodología:

1) La columna utilizada suele contener radicales octadecilo (C-18) como relleno (Abernethy, 1985a, 1985b), (Beach, 1986), (Bechtel, 1988), (Berlin, 1984), (Biaggioni, 1988), (Blanchard, 1980), (Carbó, 1989), (Grant, 1984), (Lelo, 1986a 1986b), (Miceli, 1984), (O'Connell, 1984), (Scott, 1988), (Sood, 1989), (Stavric, 1983).

2) La detección suele ser espectrofotométrica a 273 nm.

3) La fase móvil suele componerse de un solvente orgánico (acetonitrilo, metanol, isopropanol, etc), junto con una solución tampón a pH ácido.

4) Suele haber una extracción orgánica seguida de evaporación a sequedad en corriente de nitrógeno, que se cuantifica con un estándar interno: 8-Cl teofilina, β -OH-etil teofilina, etc. Otras veces, se describe una precipitación de proteínas, seguida de centrifugación.

No obstante, existen diferencias en las técnicas en función de que se vaya a determinar solamente cafeína o, además, metabolitos. También depende del fluido biológico donde se realice la cuantificación: suero, saliva, orina, etc. (Badcock, 1990), (Gaspari, 1987), (Hartley, 1985), (Muir, 1982), (Scott, 1986b), (Setchel, 1987), (Suzuki, 1989).

En la Tabla II.8 se recogen diferentes condiciones de trabajo de algunos de los autores consultados:

Tabla II.8.- Métodos de análisis de cafeína mediante HPLC

REFERENCIA	COLUMNA	E. INTERNO	FASE MÓVIL	EXTRACCIÓN O PRECIPITAC.
Abernethy (1985a,b)	Bondapack C-18	Fenacetina	Acetonitrilo T.Acetato pH4	Acetonitrilo
Alkaysi (1988)	Ultrasphere ODS	Acetanilida	Acetonitrilo- metanol- T.Acet. (pH4)	Precipitac. con ZnSO ₄
Beach (1986)	Nucleosil C-18	8-Cl teofil.	T.Acet.pH 5.5 Acetonitrilo Metanol	1-Cl butano
Berlín (1984)	Bondapack C-18	β-OH-etil- teofilina	T.Acet. pH 4 Acetonitrilo	Precipitac. con acetoneit
Carbó (1989)	Spherisorb ODS-1	Etil- teofilina	THF 2%-Na ₂ SO ₄ Ac.fosfórico- Acetonitrilo- metanol	Metanol
Lelo (1986a,b)	Ultrasphere ODS	β-OH-etil- teofilina	Acet.sódico metanol-THF	HCl 0.2 M + diCl metano
Scott (1984)	Hypersil ODS	7-(β-OH- propil)- teofilina	Acetonitrilo- THF-T.Acet. pH=4	Cloroformo- Isopropanol

II.3.6 FARMACOCINÉTICA

Los primeros estudios farmacocinéticos de la cafeína en humanos se remontan a los años cincuenta (Axelrod, 1953), (Cornish, 1957). En 1975, Burg describió detalladamente la farmacocinética de la cafeína, indicando incluso posibles rutas metabólicas y distintos metabolitos de esta sustancia (Burg, 1975).

II.3.6.1 Absorción

La cafeína, administrada oralmente, se absorbe rápida y completamente, alcanzando una concentración máxima en plasma antes de los 30 minutos de la administración (Desmond, 1980), (Trang, 1985). El valor de la biodisponibilidad es aproximadamente uno (Blanchard, 1983), (Bonati, 1982), (Kanimori, 1987), (Weiss, 1990). No sufre un efecto significativo de primer paso en humanos (Burg, 1975), (Weiss, 1990), a diferencia de algunos estudios realizados con animales, donde sí se evidencia un efecto de primer paso (Aldridge, 1977).

Con un pK_a de 0.8, la cafeína es un ejemplo de una base que es rápidamente transportada y con una absorción independiente del pH (Rowland, 1989).

II.3.6.2 Distribución

Se distribuye rápidamente por toda el agua corporal (Axelrod, 1953), (Grant, 1983a), estando su volumen de distribución influido por el peso de los individuos, pero no por determinados hábitos que influyen sobre otros parámetros farmacocinéticos, como el fumar (Abernethy, 1985a), ni por la existencia o no de patología hepática (Renner, 1984).

Con respecto a la unión a proteínas plasmáticas, la cafeína se une preferentemente a la albúmina plasmática, en un porcentaje aproximado del 30 por ciento (Desmond, 1980), (Wallhänder, 1985b), sin que existan diferencias significativas con respecto a este valor debidas a la edad (Blanchard, 1982).

II.3.6.3 Eliminación

La cafeína es metabolizada prácticamente en su totalidad en el hígado, excretándose sólo un 1 por ciento como cafeína inalterada por la orina (Bonati, 1982), (Callahan, 1982). La ruta metabólica se muestra en las figuras II.6 y II.7. De todos los pasos, el más importante cuantitativamente es la N-desmetilación oxidativa que sufre la cafeína para dar paraxantina (1,7 dimetilxantina), aunque por otras N-desmetilaciones da lugar a teofilina (1,3 dimetilxantina) y teobromina (3,7 dimetilxantina). (Grant, 1983a), (Wietholtz, 1981), (Cornish, 1957), (Kotake, 1982). Posteriormente, estos compuestos vuelven a sufrir otra desmetilación para originar derivados monometilados de la xantina. A su vez, los compuestos metilados de la xantina se transforman en derivados del ácido úrico (Burg, 1975), (Grant, 1983a), (Kalow, 1985).

Un gran número de estudios realizados en animales y en seres humanos parece demostrar que el sistema de monooxigenasas u oxidasas de función mixta, a través del sistema citocromo P-450, en particular, el citocromo P-448 (P₁-450) o citocromo inducible por hidrocarburos policíclicos aromáticos, es el responsable de las N-desmetilaciones de la

cafeína y de otras metilxantinas (Aldridge, 1977), (Parsons, 1978), (Wietholtz, 1981), (Kotake, 1982), (Tang, 1983), (Bonati, 1984), (Geneve, 1990), concretamente, de los tres tipos de N-desmetilaciones que dan lugar a los tres compuestos dimetilados. Varios hechos parecen confirmar esta hipótesis:

-a) El escaso metabolismo de la cafeína en los recién nacidos podría ser debido a una disminución en la actividad del citocromo P-448 (Pelkonen, 1973)

-b) La velocidad de eliminación de la cafeína está aumentada en animales que han sido sometidos a un pretratamiento con 3-metil clorantreno, que es un inductor de esta enzima (Aldridge, 1977)

-c) El tabaco, en cuya composición figuran hidrocarburos policíclicos aromáticos, aumenta el aclaramiento de la cafeína, tanto en individuos sanos como en pacientes cirróticos (Joeres, 1988)

El citocromo P-448 tiene, además, interés toxicológico por su papel en la conversión de varias sustancias contaminantes del ambiente en productos intermedios, incluyendo carcinógenos (Ioannides, 1984).

Una 8-hidroxilasa microsomal es la responsable del paso de paraxantina a ácido 1-7 dimetilúrico (Grant, 1983a). Una xantín oxidasa soluble, no microsomal, actúa sobre la 1-metilxantina para formar 1-metilúrico. Una N-acetil transferasa es la responsable del paso de 1-metilxantina a 5-acetilamino-6-formilamino-3-metil uracilo (Grant, 1983a), (Grant, 1983b), (Tang, 1983), (Grant, 1984). Esta reacción de la N-acetil transferasa ha sido utilizada por varios investigadores para estudiar el fenotipo acetilador de los individuos a través de las cantidades relativas de 1-metilxantina y 5-acetilamino-6-formilamino-3-metil uracilo en orina (Grant, 1983b, 1984), (Preisig, 1983), (Clark, 1985), (Lemieux, 1986), (Tang, 1983, 1986, 1987), (Hardy, 1988), (Evans, 1989), (El-Yazigi, 1989a, 1989b), (Lorenzo, 1989), (Morris, 1989), (Kilbane, 1990). Se ha señalado que la relación entre los metabolitos urinarios procedentes de la 7-desmetilación (1-metilxantina + 1-metilúrico + 5-acetilamino-6-formilamino-3-metil uracilo -AFMU-) y los resultantes de la 8-hidroxilación (1,7-dimetilúrico), es un buen reflejo del aclaramiento sistémico de la cafeína, y permite valorar la actividad del citocromo P-448 (Campbell, 1987b) (Dorantes, 1988).

En la figura II.6 se representa un esquema de la formación de los cinco principales metabolitos de la cafeína, aunque se han identificado más de quince, todos ellos derivados de la xantina, ácido úrico o uracilo.

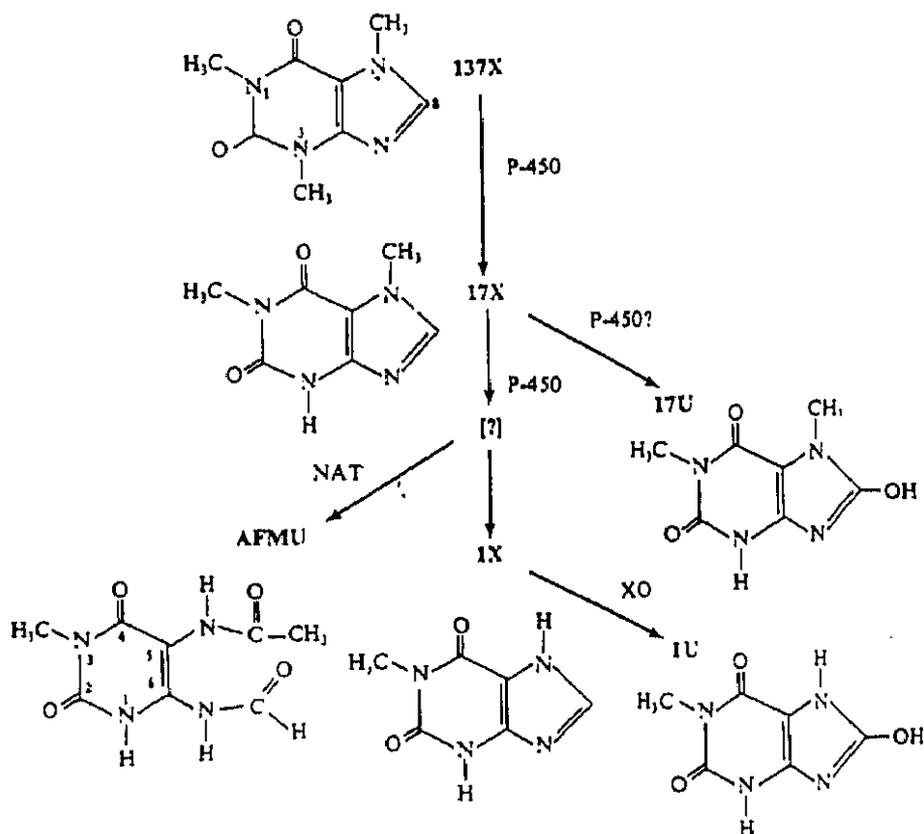


Fig. II.6: Formación de los 5 metabolitos principales de la cafeína en el hombre (Kalow, 1985)

Abreviaturas:

- 137X: cafeína (1,3,7-trimetilxantina)
- 17X: paraxantina (1,7-dimetilxantina)
- 17U: 1,7-dimetilúrico
- 1X: 1-metilxantina
- 1U: 1-metilúrico
- AFMU: 5-acetilamino-6-formilamino-3-metiluracilo
- P-450: alguno de los isozimas del citocromo P-450
- XO: xantín oxidasa
- NAT: N-acetil transferasa

La figura II.7 representa la formación de los distintos metabolitos de la cafeína identificados en la orina humana:

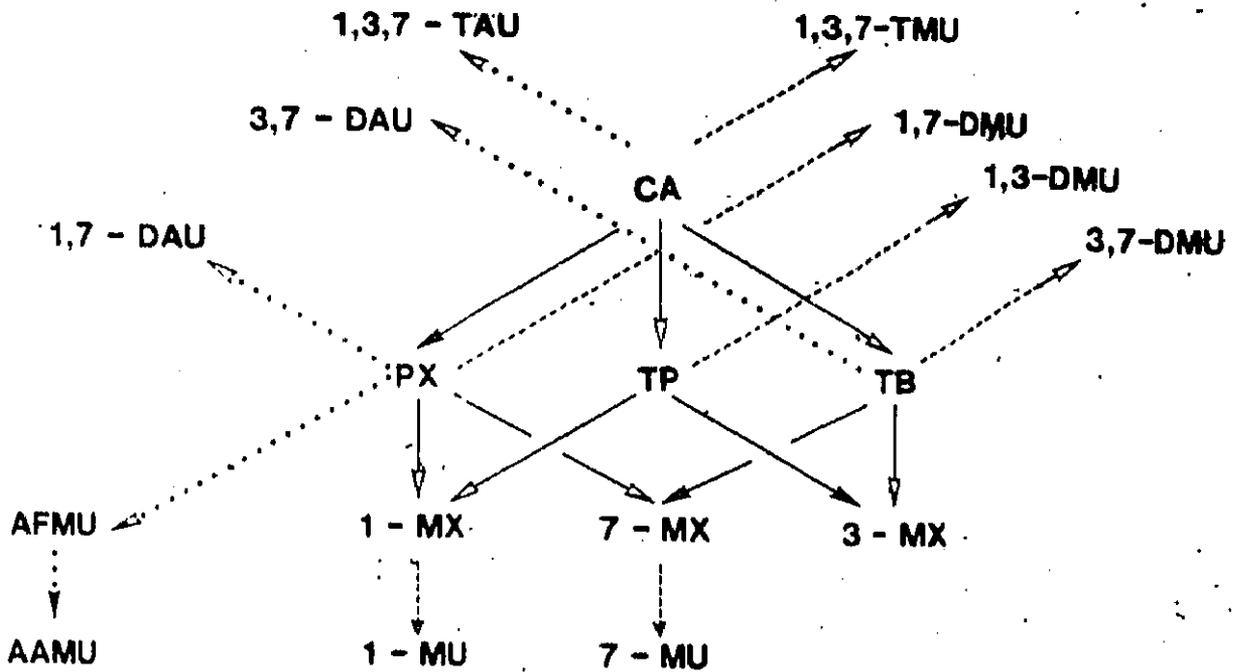


Figura II.7
(Lelo, 1986c)

Abreviaturas:

CA: cafeína; PX: paraxantina; TB: teobromina; TP: teofilina; MX: metilxantina; MU: metilurato; TMU: trimetilurato; DMU: dimetilurato; 1,3,7-TAU: 6-amino-5-[N-formilmetilamino]-1,3-dimetiluracilo; n,7-DAU: 6-amino-5-[N-formilmetilamino]-n-metiluracilo; AFMU: 6-formilamino-5-acetilamino-3-metiluracilo; AAMU: 6-amino-5-acetilamino-3-metiluracilo.

- : Indican rutas de demetilación
- : Indican 8-oxidación
- : Indican formación de uracilos

La medida de la concentración sérica o plasmática de cafeína a distintos tiempos, o la cuantificación del CO₂ eliminado por la respiración, y proveniente de la 3-desmetilación de la cafeína, puede ser indicativa de la actividad enzimática ligada al citocromo P-448 (Aldridge, 1977), (Wietholtz, 1981), (Kotake, 1982), (Renner, 1984), (Campbell, 1987a).

La eliminación sigue una cinética de primer orden según la mayoría de los autores consultados (Newton, 1981), (Bonati, 1982), (May, 1982), (Blanchard, 1983), (Renner, 1984), (Bianchetti, 1988), aunque otros autores indican una farmacocinética dosis dependiente (Dan-Shia, 1983), (Cheng, 1990).

La vida media de la cafeína varía entre 4 y 7 horas en individuos adultos sanos y no fumadores (Statland, 1980). El aclaramiento plasmático es alrededor de 1.6 ml/min/Kg (May, 1982).

Existe una gran variabilidad en la eliminación de la cafeína, que puede ser debida en parte a condicionamientos genéticos (Grant, 1983a), (Preisig, 1983), (Clark, 1985), (El-Yazigi 1989a, 1989b) y también a muchos otros factores o medicación concomitante.

En los últimos diez años, se ha publicado un gran número de trabajos sobre la influencia de diversos fármacos, patologías u otros factores en el aclaramiento y vida media de la cafeína y/o sus metabolitos principales. A modo de resumen, recogemos en las tablas II.9 y II.10 algunos de los artículos más relevantes consultados para la realización de esta parte teórica. De todos los fármacos y factores representados en estas tablas, interesa resaltar, por su importancia clínica e influencia en la prueba de la cafeína, la disminución que ejercen sobre el aclaramiento, la cimetidina y las fluorquinolonas, y la inducción enzimática o el aumento en el aclaramiento, del tabaco y de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en general (Jusko, 1978). Otros factores menos importantes son el mayor o menor consumo de cafeína en la dieta, la obesidad, el ejercicio, etc.

La excreción se realiza casi totalmente por vía renal en forma de metabolitos (Cornish, 1957), (Miners, 1982, 1985), (Dan-Shya, 1983), (Birkett, 1985), (Blanchard, 1985), (Lelo, 1986a, 1986c), (Campbell, 1987a, 1987b). Su excreción fecal es poco importante (Callahan, 1982), (Blanchard, 1985). En algunos individuos la eliminación es completa en 24 horas, con dosis de hasta 400 mg de cafeína, mientras que en otros, esta eliminación se alarga considerablemente (Grant, 1983a), existiendo una importante variación interindividual en todos los parámetros farmacocinéticos que indican velocidad de eliminación (Parsons, 1978), (Wietholtz, 1981), (Newton, 1981), (Grant, 1983a), (Kalow, 1985).

Tabla II.9.- Influencia de diversos fármacos sobre la eliminación de la cafeína

FARMACO	EFFECTO SOBRE LA ELIMINACION DE LA CAFEINA	REFERENCIA
Alopurinol	↓ la 8-hidroxilasa	Grant, 1986
Acetazolamida	↔	Delbeke, 1988
Carbamazepina	↔	Wietholtz, 1989
Cimetidina	↓	Broughton, 1981 May, 1982 Nazario, 1986 Fazio, 1989
Diazepam	↓	Demas, 1977 Statland, 1980 Ghoneim, 1986
Disulfiran	↓	Beach, 1986
Esteroides y anticoncep. orales	↓	Pathwardhan, 1980 Rietveld, 1984 Abernethy, 1985b Fazio, 1989
Fenil-propanolamina	↓	Lake, 1990
Fenitoína	↑	Wietholtz, 1989
Flecainida	↔	Joeres, 1987a
Furafilina	↓	Tarrus, 1986
Furosemida	↔	Delbeke, 1988
Ketokonazol	↓	Wahlländer, 1989
Lidocaína	↔	Joeres, 1987a
Mexiletina y otros antiarrítmicos	↓	Joeres, 1987b
Acido nalidíxico	↔	Harder, 1988
Psoralenos	↓	Mays, 1987a, 1987b
Ranitidina	↔	Ritschel, 1985
Quinolonas y comp. relacionados		Staib, 1987
*Ciprofloxacilo	↓	Edwards, 1988
*Enoxacilo	↓↓	Harder, 1988
*Norfloxacilo	↓	Carbó, 1989
*Ofloxacilo	↔	Healy, 1989
*Pipemídico ác.	↓↓	Barnett, 1990
Terbinafilina	↓	Wahlländer, 1989
Tocainida	↔	Joeres, 1987a
Valproico	↔	Wietholtz, 1989
Verapamilo	↓	Reichen, 1986 Nawoot, 1988

Nota: ↓=Baja el Cl; ↑=Sube el Cl; ↔=No modifica el Cl;

Tabla II.10.- Influencia de diversos factores sobre la eliminación de la cafeína

FACTOR	ESTUDIO	EFEECTO SOBRE LA ELIMINACION	REFERENCIA
Edad	Metabolismo en jóvenes y ancianos	Ligeras diferencias en el perfil de algunos metabolitos	Blanchard, 1985 Jost, 1985 Lambert, 1986
	Relación entre Cl y flujo urinario en ancianos		Trang, 1985
	Metabolismo en prematuros y recién nacidos	Muy limitado en algunas rutas metabólicas	Aldridge, 1979 Gorosdischer, 1986
Peso	Obesidad	↔	Abernethy, 1984 y 1985a
		↓ _{t_{1/2}}	Kanimori, 1987
Dieta	Deficit Vitamina C	↔	Anderson, 1979 Anderson, 1988
	Alta proporción proteínas	↑	Juan, 1986
	Carne a la brasa	↑	Kappas, 1978
Ejercicio	Obesos versus delgados	↓ _{c_{max}} y ABC en obesos y no en delgados	Kanimori, 1987
Hospitalización	Pacientes hospitalizados	↔	Gardiner, 1986
Embarazo	15 embarazadas vs. 9 controles	↔	Cummings, 1983 Scott, 1986a
Lactancia		↔	Berlín, 1984 Sagraves, 1984 Stavchanski, 1988
Alcohol	50 g/día de alcohol	↑ _{t_{1/2}} , ↓Cl	George, 1986
Fumar	Prueba del CO ₂ espirado Sanos y cirrosis alcohólica Importancia para función hepática	↑	Parsons, 1978 Kotake, 1982 Joeres, 1988 Murphy, 1988
Café	Ingesta	↔ ↑	George, 1986 Caraco, 1990
	Abstinencia	Normaliza eliminación	Marchesini, 1988 Caraco, 1990
Patologías	Diabetes insulino-dependiente	↔, aunque influye en la N-acetil transferasa	Bechtel, 1988
	Fibrosis cística	↔	Bianchetti, 1988
	Infección no hepática	↔	Pirovino, 1989

Nota: Las flechas ↑, ↓, ↔, se refieren a cómo influyen los distintos factores sobre el Cl (↑ = sube, ↓ = baja, ↔ = no modificación)

II.3.7 LA CAFEÍNA COMO PRUEBA DE FUNCIÓN HEPÁTICA

Como ya ha sido mencionado en el apartado correspondiente (II.3.6), los primeros estudios farmacocinéticos de la cafeína en seres humanos se deben a Axelrod (1953), y a Cornish (1957), aunque fue Alan W. Burg, en 1975, quien describió más completamente la farmacocinética de la cafeína, pormenorizando incluso las posibles rutas metabólicas y distintos metabolitos de la cafeína (Burg, 1975).

Sin embargo, el primer trabajo que señaló un aumento de la vida media de la cafeína en una enfermedad hepática -un paciente alcohólico- se debe a Bernard E. Statland y cols., (Statland, 1976). En 1977, Ted Demas junto con Statland publicaron el aumento de la vida media de la cafeína en dos pacientes con insuficiencia hepática, secundaria al abuso de alcohol, en comparación con tres sujetos sanos (Demas, 1977), (Statland, 1980).

En 1980, Paul V. Desmond y cols., realizaron un estudio sobre una población más amplia, comparando ocho pacientes cirróticos con quince voluntarios sanos, aunque no encontraron diferencias significativas en la vida media de la cafeína, a diferencia del aclaramiento, donde sí encontraron una disminución significativa en los pacientes cirróticos ($P < 0.05$). Cuando compararon el aclaramiento de la fracción libre de cafeína, las diferencias alcanzaron una significación estadística superior ($P < 0.01$) (Desmond, 1980).

En 1981, Wietholtz y cols., determinaron las curvas de exhalación de CO_2 radiactivo proveniente de la desmetilación de cafeína marcada en los radicales metilo de las posiciones 3 y 7, en dos grupos de voluntarios. Uno de ellos, estaba formado por 5 sujetos sanos y, el otro, por dos pacientes con cirrosis hepática compensada. Observaron que las curvas de exhalación de los cirróticos eran claramente diferentes de las obtenidas en los voluntarios sanos. También observaron una gran variabilidad en los sujetos con la función hepática normal, demostrando que la velocidad de excreción del CO_2 marcado era doble en su grupo de fumadores (Wietholtz, 1981).

Eberhard Renner y cols. publicaron en 1984 un artículo en el que señalaban que la cafeína podía servir como una sustancia exógena para medir cuantitativamente la actividad

microsomal del hígado. Estudiaron los parámetros farmacocinéticos (aclaramiento, vida media y volumen de distribución) de 15 pacientes cirróticos, 11 enfermos hepáticos y 10 sujetos sanos, después de administrar intravenosamente, cafeína marcada con ^{14}C en el grupo metilo de la posición 3, y analizar la radiactividad del aliento de los individuos objeto del estudio, debida a la exhalación de $^{14}\text{CO}_2$. Este trabajo (Renner, 1984) ha servido de referencia a otros muchos investigadores. También se indicaba en el mismo la posibilidad de utilizar la concentración plasmática de cafeína en ayunas como una guía para medir la gravedad de la enfermedad hepática, lo que ha sido posteriormente confirmado por otros autores (Wahländer, 1985a), (Wang, 1985), (Marchesini, 1988), (Hasegawa, 1989), (Varagnolo, 1989); sin embargo, estos investigadores indican las distintas variables que pueden condicionar los resultados, principalmente la ingesta de cafeína desde sus distintas fuentes, por lo que debe ser rigurosamente controlada (Marchesini, 1988), así como el momento en que deben ser tomadas las muestras (Holstege, 1989). En otras investigaciones, la utilidad clínica de la concentración plasmática de cafeína en ayunas no ha sido confirmada (Mooney, 1984), (Scott, 1989).

La posibilidad de utilizar muestras de saliva en lugar de sangre ha sido objeto de estudio por parte de distintos grupos de trabajo: G. Jost y cols., utilizaron muestras de plasma y saliva de 33 pacientes cirróticos y 20 voluntarios sanos, encontrando una estrecha correlación entre las concentraciones séricas y plasmáticas de cafeína, así como en las constantes farmacocinéticas derivadas de estos dos fluidos biológicos. Comprobaron la drástica disminución en el aclaramiento salival del grupo de pacientes frente al de sanos. Estos resultados los confirmaron con un grupo de 7 niños hospitalizados con enfermedad hepática y un grupo de 27 niños controles, sin enfermedad hepática (Jost, 1985). Posteriormente, otros investigadores han llegado a las mismas conclusiones en cuanto al uso de la saliva, tras la administración de cafeína, para cuantificar la función microsomal hepática (Newton, 1981), (Jost, 1987), (Kraemer, 1988), (Scott, 1989).

Algunos autores han encontrado un gran solapamiento o diferencias no significativas en los resultados de la prueba de la cafeína en la cirrosis hepática, lo que les ha llevado a cuestionar la utilidad clínica de la misma. Así, M.J. Klooster, especula con la posibilidad de utilizar la cafeína en series dentro del mismo paciente, como una medida dinámica de la

función hepática, con una posible aplicación en individuos candidatos a trasplante de hígado (Klooster, 1986).

Muchos investigadores, por el contrario, sí han encontrado diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos, o las concentraciones plasmáticas o salivales en ayunas, de la cafeína, de pacientes cirróticos y sujetos sanos (Desmond, 1980), (Renner, 1984), (Jost, 1985, 1987), (Scott, 1988, 1989), (Varagnolo, 1989), (Hasegawa, 1989), (Holstege, 1989), aunque estas diferencias no son tan evidentes cuando se ha pretendido diferenciar a los individuos sanos de los pacientes con cirrosis compensada (Scott 1988, 1989), o a los cirróticos del grado *B* y *C* de Child (Holstege, 1989). Otros autores, sin embargo, sí han encontrado diferencias significativas en los tres grupos de Child estudiados, *A*, *B* y *C* (Hasegawa, 1989).

En la fibrosis quística, el estudio farmacocinético de la cafeína, tanto en saliva como en plasma, ha demostrado su utilidad como una prueba no invasiva para cuantificar la función hepática (Kraemer, 1988).

P.L.M. Jansen y cols., han encontrado que el aclaramiento de la cafeína se correlaciona estrechamente con el volumen hepático total en un grupo de pacientes sometidos a hepatectomía parcial por tumores hepáticos. Concluyen que la prueba de la cafeína tiene interés clínico para medir la regeneración hepática, a diferencia de la prueba de la galactosa, que no se correlaciona bien con el volumen hepático (Jansen, 1990).

Un resumen de los trabajos y artículos citados en este apartado está representado en la Tabla II.11

Tabla II.11.- Influencia de las hepatopatías sobre la eliminación de la cafeína

REFERENCIA (Dosis de cafeína)	PARAMETROS FARMACOCINETICOS				SUJETOS DEL ESTUDIO
	Cl ml/min/Kg	t _{1/2} (h)	C* (µg/ml)	Vd (l/Kg)	
Statland, 1976		96			1 alcohólico
Demas, 1977 (400 mg po)		60, 168 5.6			2 alcohólicos 3 sanos
Statland, 1980 (400 mg po)		60, 168 5.7			2 alcohólicos 3 sanos
Desmond, 1980 (250 mg po)	0.9 ± 0.3 1.2 ± 0.4 ⁽¹⁾ 1.4 ± 0.5 2.0 ± 0.7 ⁽¹⁾	6.1 ± 1.9 5.2 ± 2.4			8 cirróticos 15 sanos
Mooney, 1984 (110 mg po)			0.31 0.18 0.19 ⁽²⁾ 0.16 ⁽²⁾		12 cirróticos 20 sanos 13 cirróticos 28 sanos
Renner, 1984 (2 µCi de (3-metil- ¹⁴ C) cafeína + 125 mg de cafeína iv)	0.80 ± 0.4 0.80 ± 0.4 1.52 ± 0.5 2.02 ± 0.7	17.4 ± 16 9.4 ± 5.9 4.7 ± 2.1 3.08 ± 0.9	2.5 ± 1.6 1.1 ± 1.2 0.7 ± 0.3 0.3 ± 0.1	0.57 ± 0.14 0.57 ± 0.2 0.55 ± 0.07 0.64 ± 0.13	8 cirróticos 7 cirróticos biliares 11 hepatóp. mixtos 10 sanos
Wahländer, 1985a			2.4 ± 2.0 0.9 ± 0.8 3.5 ± 1.8 0.4 ± 0.3		29 cirróticos 23 hepatóp. mixtos 11 "shunt" 16 sanos
Wang, 1985 (140 mg po)	1.0 ± 0.3 2.2 ± 0.7 3.1 ± 0.9	6.30 ± 1.1 3.85 ± 0.9 3.01 ± 0.5	2.1 ± 2.0 0.6 ± 0.6 0.3 ± 0.1		9 cirróticos 8 hepatóp. mixtos 10 sanos
Jost, 1985 (4 mg/Kg po)	0.58 ± 0.4 ^s 1.65 ± 0.4 ^s 0.61 ± 0.4 ^s 1.83 ± 0.5 ^s				33 cirróticos 20 sanos no fumador 7 niños hospitaliz. 27 sanos

Abreviaturas y signos:

po = Administración por vía oral

iv = Administración por vía intravenosa

Cl = Aclaramiento plasmático

t_{1/2} = Vida media de eliminación

C* = Concentración plasmática de cafeína en ayunas

Vd = Volumen de distribución

hepatóp. = Pacientes con enfermedad hepática

⁽¹⁾ = Aclaramiento plasmático de la fracción libre

⁽²⁾ = Concentración en ayunas tras la administración de una cantidad prefijada de cafeína (110 mg)

^s = Aclaramiento, vida media o concentración en ayunas salival

* = Aclaramiento en ml/min

Los valores se expresan ± la desviación estándar

Tabla II.11 (sigue).- Influencia de las hepatopatías sobre la eliminación de la cafeína

REFERENCIA (Dosis de cafeína)	PARAMETROS FARMACOCINETICOS				SUJETOS DEL ESTUDIO
	Cl ml/min/Kg	t _{1/2} (h)	C' (µg/ml)	Vd (l/Kg)	
Jost, 1987 (280 mg po)	0.58 ± 0.45 ^s 0.95 ± 0.47 ^s 1.53 ± 0.46 ^s				29 cirróticos 27 hepatp. no fuma. 18 sanos no fuma.
Klooster, 1986 (3.5 mg/Kg po)	0.33 - 5.67 3.02 ± 2.47				10 niños hepatóp. 5 sanos
Marchesini, 1988 (125 + 125 mg po)	2.7 - 71 (ml/min)	7 - 144			24 hepatóp. mixtos
Scott, 1988 (400 mg po)	1.4 ± 1.2 0.4 ± 0.2 1.3 ± 0.4				16 cirróticos -10 compensados -6 no compensados 8 sanos
Scott, 1989 (400 mg po)	1.19 ^s (0.46-4.52) 0.22 ^s (0.01-0.61) 1.47 ^s (0.87-2.43)	3.9 ^s (1.1-8.4) 25.8 ^s (9.8-150) 4.0 ^s (2.1-8.1)	0.2 ^s (0-0.7) 0.7 ^s (0-5.8) 0.1 ^s (0-0.4)	0.38 (0.19-0.49) 0.48 (0.35-0.58) 0.41 (0.23-0.63)	-10 cirróticos compensados -9 cirróticos descompens. -10 sanos
Varagnolo, 1989 (3.5 mg/Kg po)	0.43 ± 0.35 1.88 ± 0.60	16.5 ± 12.6 4.20 ± 1.50			40 cirr. o hepatoma 63 sanos
Hasegawa, 1989			2.06 ± 0.3 6.92 ± 1.9 17.7 ± 3.6 1.01 ± 0.2		46 cirróticos -15 Child A -21 Child B -10 Child C 34 sanos
Holstege, 1989 (7 mg/Kg po)	13.1* (3.6-116.8) 41.5* (33.5-51.3) 13.5* (4.5-40.3) 6.5* (1.8-23.6) 88.9* (60.9-129.7)	29.8 (9.5-93.4) 11.8 (8.9-15.9) 32.1 (11.2-91.4) 48.8 (14.2-168.1) 5.0 (3.1-8.1)		49.1 ± 13 (% de peso) 49.1 ± 7.3 (% de peso)	27 cirróticos -Child A -Child B -Child C 8 sanos

-Abreviaturas y signos: Ver la página anterior

-Entre paréntesis los valores correspondientes al intervalo

III) MATERIAL Y MÉTODOS

III.1 GRUPOS DEL ESTUDIO. CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN

La presente investigación se realizó en un grupo de pacientes cirróticos y en un grupo de sujetos control.

El grupo de pacientes estaba formado por 32 cirróticos hospitalizados entre los años 1989 y 1992, en el Hospital del Aire y en el Hospital Provincial de Madrid, que dieron su consentimiento por escrito para la realización del presente trabajo. Para ello fueron informados oralmente y por escrito sobre las características y detalles del mismo. Tenían edades comprendidas entre 33 y 79 años.

Once pacientes eran fumadores o lo habían sido en un pasado reciente. Los veinte restantes no fumaban o habían dejado de hacerlo hacía más de cinco años.

Diez pacientes consumían en la actualidad cantidades moderadas de alcohol, (menos de 25 g/día de etanol), mientras los restantes no ingerían en el presente cantidad alguna de alcohol.

El diagnóstico de cirrosis hepática se realizó con arreglo a criterios histológicos, mediante biopsia hepática -en el 80 por ciento de los casos-, y/o mediante criterios clínicos/analíticos suficientemente expresivos -en el resto-.

Uno de los pacientes fue excluido del estudio al presentar concentraciones constantes de cafeína durante las cuarenta y ocho horas siguientes a la administración de la misma. No se les administró en los dos días previos al estudio y, mientras duró éste, ningún medicamento conocido que pudiera interferir en el metabolismo de la cafeína, a excepción de dos pacientes que fueron tratados con ciprofloxacina, uno con norfloxacina, otro con cimetidina y otro con teofilina. Los fármacos que estaban recibiendo los pacientes se detallan en la tabla III.1.

Los pacientes fueron divididos en dos subgrupos, según el grado de disfunción hepática, medido según la puntuación de Child-Pugh (II.1.5). Cada una de las cinco variables

o parámetros estudiados: Bilirrubina, Albúmina, Ascitis, Encefalopatía y Tasa de Protrombina, se puntúa con 1, 2 o 3 puntos, según los valores que figuran en la tabla II.4. Desde el punto de vista pronóstico de su función hepática, la mejor puntuación posible es 5, y la peor 15. El primer subgrupo incluía a los pacientes con **cirrosis compensada**, con una puntuación comprendida entre 5 y 7. El segundo subgrupo estaba formado por los pacientes con **cirrosis descompensada**, con una puntuación mayor de 7. La ascitis fue confirmada, cuando fue necesario, por ecografía abdominal, y puntuada según Christensen (1984). La encefalopatía fue clasificada según Trey (Terés, 1988).

El **grupo control** estaba constituido por catorce sujetos voluntarios, sin patología hepática, cuatro mujeres y diez hombres. La ausencia de patología hepática fue comprobada mediante las exploraciones clínicas y analíticas que se detallan en el apartado correspondiente (III.4.1). Las edades estaban comprendidas entre 17 y 73 años. Ocho sujetos eran fumadores y los seis restantes no. En cuanto al consumo de alcohol, ocho de los controles bebían cantidades moderadas de alcohol (menos de 25 g/día de etanol), mientras el resto no tomaba nada o lo hacía de forma muy esporádica. Uno de los controles estaba tomando cimetidina mientras duró la prueba.

Los sujetos que formaban el grupo control, al igual que los pacientes cirróticos, fueron informados sobre los detalles de la investigación, y dieron su consentimiento por escrito para la realización de la misma. El Comité de Ética del Hospital aprobó la realización del presente estudio.

Tabla III.1.- Relación de medicamentos administrados a los pacientes mientras duró la prueba

<u>Paciente n°</u>	<u>Medicamentos</u>	<u>Paciente n°</u>	<u>Medicamentos</u>
1	3,12,12,14,18,	17	10,15,27
2	3,14,22	18	4,16
3	26	19	1,13,18,24,27,30
4	11,18	20	3,18
5	3,12,14,18,21,27,30	21	1,12,13,14,18,30
6	-	22	12,13,18
7	3,12,18,27,30	23	-
8	18,21,30	24	1,8,12,13,18,24,30
9	-	25	1,12,13,30
10	15,21,30	26	1,7,12,13,15,17,19
11	13,27,30	27	5,25
12	1,12,13,14,18	28	27,30
13	-	29	12,13,30
14	1,13,18,21,27,30	30	6,13,20,27
15	8,12,23	31	9,14,27,28
16	1,2,14,29	32	30

Acido fólico=1, Adenosil-S-metionina=2, Almagato=3, Amilorida=4, Atenolol=5, Bromazepam=6, Cimetidina=7, Ciprofloxacina=8, Clemizol=9, Clometiazol=10, Dexclorfeniramina=11, Espironolactona=12, Fitomenadiona=13, Furosemida=14, Gliclazida=15, Hidroclorotiazida=16, Insulina=17, Lactulosa=18, Magnesio=19, Maprotilina=20, Nifedipino=21, Norfloxacina=22, Paracetamol=23, Paromomicina=24, Prednisona=25, Propranolol=26, Ranitidina=27, Teofilina=28, Timonacic=29, Vitaminas B y C=30.

III.2 MATERIAL

III.2.1 INSTRUMENTAL Y UTILLAJE

Las cápsulas de cafeína se elaboraron en una encapsuladora manual marca *Berasategui*, capaz de preparar 100 cápsulas en cada lote.

Para hacer las diferentes pesadas, se utilizó una balanza analítica electrónica marca *Precisa 80A-200M*, que presenta una sensibilidad de 0.0001 g.

Para la obtención del suero a partir de las muestras de sangre se utilizó una centrífuga *Sorvall® GLC-1*, capaz de alcanzar 8000 rpm.

El sobrenadante límpido de saliva se obtuvo en una centrífuga *ABBOTT-TDX*, (a 12000 g). Esta centrífuga también se utilizó para obtener el sobrenadante que, después de una precipitación previa con metanol de las muestras de suero y saliva, se inyectaba en el cromatógrafo.

Para la obtención del agua del cromatógrafo (HPLC) se utilizó un sistema de ósmosis inversa acoplado a resinas de intercambio iónico y filtro de 0.22 μm , marca *Millipore (Milli-Ro plus + Milli-Q plus)*.

Para la cuantificación de cafeína en las muestras de suero y saliva se utilizó un cromatógrafo o sistema de HPLC, marca *Kontron serie 400*, que estaba integrado por:

-Sistema de bombeo para gradientes en baja presión marca *Kontron* formado por una bomba *modelo 420*, de doble pistón y un formador de gradientes ternario en baja presión, *modelo GF-425*, que incluye toma de helio para la desgasificación de los solventes.

-Inyector automático *modelo 465*, con volumen de inyección variable entre 10 y 90 μl .

-Detector espectrofotométrico UV-VIS *modelo 430*, de doble haz, con dos canales simultáneos de detección, programable en el tiempo y con capacidad de hacer espectros en cada canal independientemente. Célula de 8 μ l y 5 mm de trayecto óptico.

-Tratamiento de datos, control del equipo e integrador-registrador *Data system 450 MT 11*, compuesto por:

-Ordenador PC *Kontron AT 286*, Multiport de 12 interfases RS 232 C, para la conexión de los distintos módulos del HPLC.

-Programa informático de adquisición de datos en doble canal independiente, con autoselección de la velocidad de muestreo y de los parámetros de integración. Función "ratio" para la determinación de la pureza de los picos cromatográficos. Capacidad de normalizar los espectros.

-Programa informático para el control integral de los módulos cromatográficos desde el ordenador.

-Programa *Suitability Test*, para estadística y seguimiento del adecuado funcionamiento del sistema cromatográfico.

-La columna utilizada fué de 25 cm de longitud y 4 mm de diámetro. El relleno consistió en gel de sílice esférica con un diámetro medio de poro de 100 Å, un volumen de poro de 0.7 ml/g y una superficie esférica de 200 m²/g. Tamaño de partícula = 5 μ m (NUCLEOSIL 120-5C18 -*Machery & Nagel*-).

-Se utilizó una precolumna con el mismo relleno, y de dimensiones: 3 cm de longitud y 4 mm de diámetro. Tanto las columnas como las precolumnas se obtuvieron de *Reactivos Scharlau (Barcelona)*.

Además de los aparatos y equipos citados, se ha utilizado diverso material:

-Agitador automático de tubos marca *Gricel modelo 30 (Giralt-Barcelona)*.

-Baño ultrasónico *Sonorex RK 100*.

-Equipo de filtración para la fase móvil de HPLC (Kitasato, piezas para el soporte de la membrana y pinzas de acero).

-Micropipetas automáticas *Gilson Pipetman*, de volúmenes entre 10 y 500 μ l.

-Viales y microviales de tapón con "septum" para la introducción del problema en el inyector automático.

-Material de vidrio aforado: matraces, pipetas, etc.

-Material de vidrio diverso: vasos de precipitados, matraces erlenmeyer, etc.

-Material fungible: tubos para la obtención de las muestras de sangre marca *Vacutainer* (tubos separadores de suero), membranas de 47 mm de diámetro y 0.45 μm de poro, para la filtración de la fase móvil, marca *MSI*, tubos de ensayo de polietileno para conservación de muestras congeladas, sistemas de extracción de sangre marca *Abbot-t*, etc.

III.2.2 PRODUCTOS QUÍMICOS Y REACTIVOS

La cafeína, tanto para preparar las cápsulas como la que se utilizó como estándar, fue adquirida a *Sigma-Aldrich Química S.A. (División de Sigma Chemical Co)*.

También se adquirió a Sigma-Aldrich el suero de caballo para validar la técnica de extracción cromatográfica.

Los solventes para cromatografía (metanol y acetonitrilo) fueron de calidad HPLC y adquiridos a *Reactivos Scharlau*.

III.3 MÉTODOS

III.3.1 EXPLORACIÓN CLÍNICA Y ANALÍTICA

Se mantuvo una entrevista personal con cada sujeto (paciente o control) donde éste fue informado sobre el carácter experimental de la prueba, sobre los detalles de la misma, así como de la posibilidad de someterse o no a ella.

En aquellos casos en los que el sujeto aceptó, fue preguntado sobre sus hábitos alimenticios, consumo diario de alcohol, tabaco, café y todos aquellos extremos que pudieran tener algún interés para la interpretación de los resultados de la prueba.

Cada sujeto fue sometido a una exploración clínica y analítica en relación con su situación clínica. La exploración física consistió en:

- Estado general del paciente
- Palpación abdominal (tamaño del hígado, consistencia hepática, ascitis, etc.)
- En todos los casos necesarios, este estudio fue completado con una exploración instrumental, mediante técnicas de imagen (ecografía hepática, gammagrafía hepática, etc.).
- Estado de nutrición
- Estado neurológico

La exploración analítica consistió en:

- Estudio hematológico, proteínas totales, albúmina sérica, bilirrubina total sérica, tiempo de protrombina, transaminasas (GGT, GOT, GPT), fosfatasa alcalina, creatinina sérica, marcadores serológicos de hepatitis

III.3.2 DOSIFICACIÓN DE LAS CÁPSULAS

Para este trabajo, se elaboró un lote de 100 cápsulas de gelatina del número cero, conteniendo cada una 280 mg de cafeína pura, cumpliendo las condiciones dictadas por la Farmacopea Europea, segunda edición (1988). Una vez limpias y cerradas, se realizó el ensayo de masa de las preparaciones presentadas en dosis únicas, tal y como se describe en el capítulo V.5.2 de la citada Farmacopea:

Se pesan individualmente 20 unidades escogidas al azar y se determina la masa media. La masa individual de no más de dos unidades se puede desviar de la masa media en un porcentaje superior al 10 por ciento, pero ninguna cápsula puede desviarse más del 20 por ciento. Para ello, se pesó una cápsula llena. Sin perder fragmentos de la cubierta, se abrió la cápsula y se eliminó su contenido lo más completamente posible. Se pesó la cubierta y se calculó el peso de su contenido por diferencia. Se repitió la operación con otras 19 cápsulas, obteniéndose los pesos que se muestran en la tabla III.2.

Tabla III.2.- Dosificación de las cápsulas

N° de cápsula	Peso Total (mg)	Peso Vacío (mg)	Peso contenido (mg)
1	425.0	107.1	295.4
2	388.2	104.4	283.8
3	388.8	105.3	282.7
4	372.5	95.4	277.1
5	388.3	106.7	281.6
6	385.5	99.5	286.1
7	386.2	104.1	281.7
8	376.8	99.9	276.9
9	396.0	104.8	291.2
10	368.6	100.0	268.6
11	380.8	103.8	277.0
12	368.2	101.1	267.1
13	388.8	104.8	284.0
14	370.6	101.0	269.6
15	380.8	101.9	278.9
16	381.4	101.3	280.1
17	378.9	100.2	278.7
18	392.6	104.0	288.6
19	383.0	102.0	281.0
20	380.6	104.2	276.4

MEDIA: 280.3 mg
10%: 28 mg
MEDIA ± 10% : 308 - 252 mg

III.3.3 ADMINISTRACIÓN DE LA CAFEÍNA Y OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Una vez seleccionados los individuos que participarían en el estudio, en la entrevista personal se les requirió para que no tomaran alimentos y bebidas que tuvieran cafeína o derivados: café, té, bebidas estimulantes de cola, cacao y derivados, etc., durante las 48 horas previas al comienzo de la prueba.

El día que comenzaba el estudio, después de una noche en ayunas, se les administró por la mañana, por vía oral, una cápsula que contenía 280 mg de cafeína, junto con un vaso de agua. Pasada media hora de la administración, se les proporcionaba un desayuno igual para todos, consistente en un vaso de leche y unas galletas.

Las muestras de sangre y saliva se obtuvieron a los tiempos: 0 (condiciones basales), 30 minutos, 1 hora, 2, 3, 4, 6, 12, 24 y 48 horas. En aquellos pacientes que fue posible prolongar el estudio, se obtuvo otra muestra de sangre y saliva a las 72 horas.

Las muestras de sangre (6 cm³ aproximadamente) se obtenían por venipuntura de la vena cubital media, aunque en algunos casos de difícil obtención, se recurrió a otras venas. Debido al elevado número de muestras se procuraba tomar una vía con un catéter *Abbocath* que, después de la primera extracción, se mantenía heparinizado con 1 ml de una solución diluida de heparina. En el momento de realizar la extracción, se desechaban los 3 primeros mililitros. Los 6 ml siguientes se disponían en tubos de vidrio especiales para la obtención del suero (*Vacutainer*®) que ya estaban etiquetados y numerados para su correcta identificación. Se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos. El suero fue traspasado a tubos de polietileno y congelado a -30 °C hasta su análisis. La obtención de las muestras de sangre fue particularmente difícil en algunos pacientes, debido a la fragilidad de sus venas y a las múltiples extracciones a las que suelen estar sometidos este tipo de pacientes crónicos. Esta dificultad hizo imposible en algunos casos el coger una vía, por lo que, en estos pacientes, por motivos éticos, se optó por hacer menos extracciones de sangre (unas cinco) para no dañar más sus frágiles venas.

Para la obtención de las muestras de saliva (2 ml aproximadamente) no se empleó

ningún tipo de estimulación previa de la secreción. La saliva se recogió en tubos de vidrio con bordes esmerilados. Fue centrifugada a 3000 g durante 5 minutos en estos mismos tubos, y el sobrenadante se traspasó a tubos Eppendorf, donde fue centrifugada a 12000 g. A pesar de esta doble centrifugación, en algunos casos fue difícil obtener un sobrenadante límpido debido a la viscosidad de la saliva. El sobrenadante así obtenido fue conservado del mismo modo que el suero de la sangre.

Tanto en las muestras de sangre como en las de saliva, cuando la extracción no pudo realizarse a la hora exacta previamente programada, la ATS/DUE anotaba la hora real de la extracción, en unos impresos preparados a tal efecto.

III.3.4 TÉCNICA ANALÍTICA DE DETERMINACIÓN DE LA CAFEÍNA

La determinación de la cafeína en suero y saliva, mediante cromatografía líquida de alta resolución, se realizó utilizando un método original.

III.3.4.1 Patrones de calibración

Los patrones para la calibración de la técnica se prepararon a partir de cafeína anhidra (*Sigma reference standard*) que cumplía las normas de la Farmacopea de los Estados Unidos -USP- (XX Edición). Se pesaron 100 mg exactamente de esta sustancia y se disolvieron en un matraz aforado hasta un volumen de 500 ml de una solución metanol-agua a partes iguales. Con esto se obtenía una solución madre de 200 $\mu\text{g/ml}$. De esta solución concentrada se prepararon distintos patrones con unas concentraciones finales de: 20, 10, 5 y 1 $\mu\text{g/ml}$.

III.3.4.2 Muestras de control de calidad

Los controles de calidad para verificar el adecuado funcionamiento del sistema y de la técnica cromatográfica se prepararon de idéntico modo a los patrones de calibración. La concentraciones finales obtenidas fueron de 5 y 1 $\mu\text{g/ml}$.

III.3.4.3 Muestras problema

El método de extracción fue idéntico para el suero y la saliva: Consistió en una precipitación previa con metanol (300 μ l de suero o saliva + 300 μ l de metanol). A continuación se agitaba enérgicamente durante medio minuto en un agitador automático, y se centrifugaba a 12000 g durante cinco minutos. 20 μ l del sobrenadante se inyectaron en el cromatógrafo. En estas condiciones, el tiempo de retención de la cafeína fue de 4.3 minutos.

III.3.4.4 Procedimiento. Condiciones experimentales

Se utilizó una fase móvil compuesta por:

ácido acético al 1 por ciento.....	80% v/v
metanol.....	10% v/v
acetonitrilo.....	10% v/v

Esta fase móvil se hizo pasar, a un flujo de 1.5 ml/min, a través del sistema cromatográfico descrito en el apartado III.2. La detección se hizo a 273 nm, ya que la cafeína presenta, a esa longitud de onda, un máximo de absorción, según fue comprobado previamente haciendo el espectro de absorción de la cafeína entre 225 y 325 nm (Fig. IV.1).

Las columnas usadas son las que se describen en el apartado correspondiente de este capítulo de Material y Métodos (III.2).

La adquisición y conservación de datos se realizó mediante el programa informático previamente referido (Data system 450 MT 11), que a su vez permitió la cuantificación de las muestras problema utilizando rectas de calibración de disoluciones preparadas a tal efecto (III.4.4.1), y midiendo el área de los picos correspondientes a la cafeína.

El adecuado funcionamiento del sistema cromatográfico se llevó a cabo mediante el programa informático Suitability Test previamente aludido (III.2).

III.3.4.5 Procedimiento de validación de la técnica

A) Especificidad.- La técnica empleada resultó específica para la cafeína, no observándose solapamiento entre el pico cromatográfico de la cafeína y los de sus metabolitos principales. Tampoco se observaron interferencias con picos debidos a otros medicamentos.

B) Linealidad.- La linealidad de la respuesta se investigó en un intervalo de valores comprendido entre 1 y 20 $\mu\text{g/ml}$. Cada patrón se repitió por duplicado.

C) Límite de Detección.- El límite de detección se calculó, según la IUPAC (International Union Pure and Applied Chemistry) como el valor medio del blanco más tres veces la desviación típica. El valor de la intersección de la línea de calibración con el eje de ordenadas puede ser tomado como el valor del blanco. Según Mehta (1989), esta determinación es más segura que una simple repetición de varias muestras con el blanco. Igualmente, la desviación típica de la regresión lineal puede ser usada como la desviación típica del blanco (Mehta, 1989).

D) Precisión y seguridad.- Para la determinación de la precisión se analizó la misma muestra un total de 10 veces en el mismo día (repetibilidad). Se realizaron asimismo 10 repeticiones en distintos días de la misma muestra (reproducibilidad).

E) Recuperación.- Para calcular el coeficiente de recuperación de esta técnica analítica, en suero y saliva, se procedió del siguiente modo: Partimos de la solución concentrada de 200 $\mu\text{g/ml}$ de cafeína. Añadiendo 1, 0.5, y 0.05 ml de esta solución a matraces de 10 ml de capacidad y enrasando posteriormente con suero de caballo o saliva -sin cafeína- obtuvimos concentraciones de 20, 10, y 1 $\mu\text{g/ml}$ de cafeína, en suero y en saliva. De cada una de las soluciones preparadas se realizaron dos repeticiones.

F) Estabilidad.- La estabilidad de los patrones y controles se estudió analizando las muestras correspondientes en 4 períodos diferentes (tiempos cero, 1, 2 y 7 días), conservando las muestras analizadas a temperatura de 4-8 grados centígrados. La estabilidad de las muestras problema se investigó analizando las mismas tras un período de tres meses a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

III.3.5 TRATAMIENTO FARMACOCINÉTICO

El cálculo de los parámetros farmacocinéticos (K_{ab} , α , β y V_d) así como el ajuste de los valores experimentales de concentración-tiempo, hallados para cada paciente, a un modelo farmacocinético determinado (mono y bicompartimental) se realizó mediante regresión no lineal. Para ello se utilizó un programa informático (*MULTI*) (Yamaoka, 1981) modificado por J. Martínez Lanao. Con la modificación realizada, fue posible realizar gráficos de los valores experimentales y de la curva de la función obtenida.

El programa ajustó los datos experimentales concentración-tiempo a una suma de ecuaciones exponenciales, usando distintos algoritmos de mínimos cuadrados ponderados (Gauss-Newton, Damping Gauss-Newton, Marquardt y Simplex). En nuestro estudio, se utilizó un factor de ponderación $1/c$. Este factor fue seleccionado en función de la varianza del método analítico, (Boxenbaum, 1974) (Yamaoka, 1977). De los distintos algoritmos, generalmente se recurrió al de Simplex, ya que al no requerir la estimación de la matriz varianza-covarianza como parte del algoritmo, funcionó muy bien cuando no se pudieron estimar con exactitud todos los parámetros del modelo. El resto de algoritmos tienen el inconveniente de "rebotar" con facilidad cuando las estimadas iniciales no están cerca de los valores reales.

La suma residual de cuadrados (SS), que se trata de minimizar es igual a:

$$SS = \sum_i^J W_{i,j} (c_{i,j} - f_i(t_j, P))^2 \quad \text{III.1}$$

donde $c_{i,j}$ es el valor de la concentración de cada punto experimental en diferentes tiempos, $f_i(t_j, P)$ es la ecuación teórica (suma de dos o más exponenciales) a la que hay que ajustar los puntos, que depende del modelo farmacocinético buscado; t_j es el tiempo para cada concentración hallada, P son los parámetros farmacocinéticos que deben ser estimados y $W_{i,j}$ es el factor de ponderación.

Las ecuaciones introducidas al programa para el ajuste de los puntos, correspondieron

a las de modelos monocompartimental y bicompartimental con fase de absorción, y que son las siguientes:

-monocompartimental:

$$c = c_0 (e^{-K_{el} t} - e^{-K_{ab} t}) \quad \text{III.2}$$

-bicompartimental:

$$c = A_0 e^{-\alpha t} + B_0 e^{-\beta t} - (A_0 + B_0) e^{-K_{ab} t} \quad \text{III.3}$$

donde los parámetros a determinar por el programa son c_0 , K_{el} y K_{ab} , (concentración extrapolada a tiempo cero -suponiendo la administración intravenosa-, constante de eliminación y constante de absorción, respectivamente) para el modelo monocompartimental, y A_0 , B_0 , α , β y K_{ab} , (A_0 y B_0 son las ordenadas en el origen de las rectas de pendientes α y β respectivamente; α y β son las constantes híbridas de eliminación o disposición correspondientes a un modelo bicompartimental; K_{ab} es la constante de absorción) para el modelo bicompartimental (Plá Delfina, 1974).

El AIC (Akaike's Information Criterion) también lo calcula el programa MULTI, según la expresión:

$$AIC = N \ln (SS) + 2M \quad \text{III.4}$$

donde N es el número de puntos experimentales y M es el número de parámetros a estimar, que dependerá del modelo elegido (tres para el monocompartimental y cinco para el bicompartimental). Se seleccionó como modelo que mejor ajustaba los datos experimentales de cada paciente, el que menor valor AIC presentaba, (MAICE: "Minimum AIC Estimation) que corresponde con la representación más simple de un grupo determinado de valores experimentales (Akaike, 1976) (Yamaoka, 1978).

Para que los algoritmos del programa MULTI comiencen con su cálculo iterativo es necesario introducir unos valores estimados inicialmente para los parámetros. Debido a que estos valores pueden condicionar los resultados finales del ajuste, se calcularon mediante un programa informático de regresión lineal denominado JANA (Dunne, 1985).

El Área Bajo la Curva se calculó mediante el método de los trapezoides, mediante un programa propio escrito en BASIC. La extrapolación a tiempo infinito de la parte residual del área se calculó según la expresión de Dost (Plá Delfina, 1974):

$$ABC_{(t \rightarrow \infty)} = \frac{c_n}{K_{el}} \quad \text{III.5}$$

donde $ABC_{(t \rightarrow \infty)}$ es el área bajo la curva desde el tiempo t hasta infinito, c_n es el valor de la concentración a tiempo t y K_{el} es la constante de eliminación. Del mismo modo, cuando existía un valor de concentración inicial distinto de cero, se restó a la suma de las áreas anteriores el área correspondiente a este valor. Este área (ABC_{c_i}) se calculó mediante la referida expresión de Dost (III.5), sustituyendo c_n por c_i . Por lo tanto el "área real" será:

$$ABC = ABC_{(0 \rightarrow t)} + ABC_{(t \rightarrow \infty)} - ABC_{c_i} \quad \text{III.6}$$

A partir de este valor del ABC se obtuvo el aclaramiento (Cl) (Rowland, 1989):

$$Cl = \frac{D F}{ABC} \quad \text{III.7}$$

donde D es la dosis administrada, es decir, 280 mg, F es la biodisponibilidad, en nuestro caso, 1 (Blanchard, 1983).

El volumen de distribución (V) se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$V = \frac{Cl}{K_{el}} = \frac{D}{ABC K_{el}} \quad \text{III.8}$$

tomando como constante de eliminación K_{el} o β , dependiendo del modelo farmacocinético seleccionado (Rowland, 1989).

La vida media ($t_{1/2}$) se determinó mediante la expresión:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_{el}} = \frac{0.693}{K_{el}} \quad \text{III.9}$$

con las mismas consideraciones para K_{el} o β que en la expresión anterior (III.8).

Para hallar el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ($t_{m\acute{a}x}$) en los modelos monocompartimentales se usó la siguiente ecuación:

$$t_{m\acute{a}x} = \frac{1}{K_{ab} - K_{el}} * \ln \frac{K_{ab}}{K_{el}} \quad \text{III.10}$$

La concentración alcanzada en ese tiempo se calculó mediante la expresión:

$$c_{m\acute{a}x} = c_0 \frac{K_{ab}}{K_{ab} - K_{el}} (e^{-K_{el} t_{m\acute{a}x}} - e^{-K_{ab} t_{m\acute{a}x}}) \quad \text{III.11}$$

donde c_0 es la concentración extrapolada a tiempo cero suponiendo una administración intravenosa. Es uno de los parámetros calculados por el programa MULTI (ecuación III.2). Tanto la ecuación III.10 como la III.11 derivan de la función de Bateman (Plá Delfina, 1974).

Para los modelos bicompartimentales, tanto el $t_{m\acute{a}x}$ como la $c_{m\acute{a}x}$ se calcularon a partir de las gráficas de la ecuación obtenida, mediante la modificación del programa MULTI ya mencionada anteriormente, que permite representar el intervalo de la función que se desee. En la Figura III.1 se representa uno de los casos (el del paciente n° 25), apreciándose que los tiempos representados en el eje de abcisas van de 0 a 2 horas, para poder estimar con exactitud el $t_{m\acute{a}x}$ y la $c_{m\acute{a}x}$.

Para el cálculo de la constante de eliminación, *a partir de dos únicos puntos* se utilizó la siguiente ecuación:

$$K_{el} = \frac{\ln c_1 - \ln c_2}{t_2 - t_1} \quad \text{III.10}$$

Para el cálculo del aclaramiento *a partir de dos únicos puntos*, se utilizó la siguiente expresión:

$$Cl = V * K_{el} \quad \text{III.11}$$

en la que el volumen aparente de distribución (V) se halló realizando los siguientes cálculos:

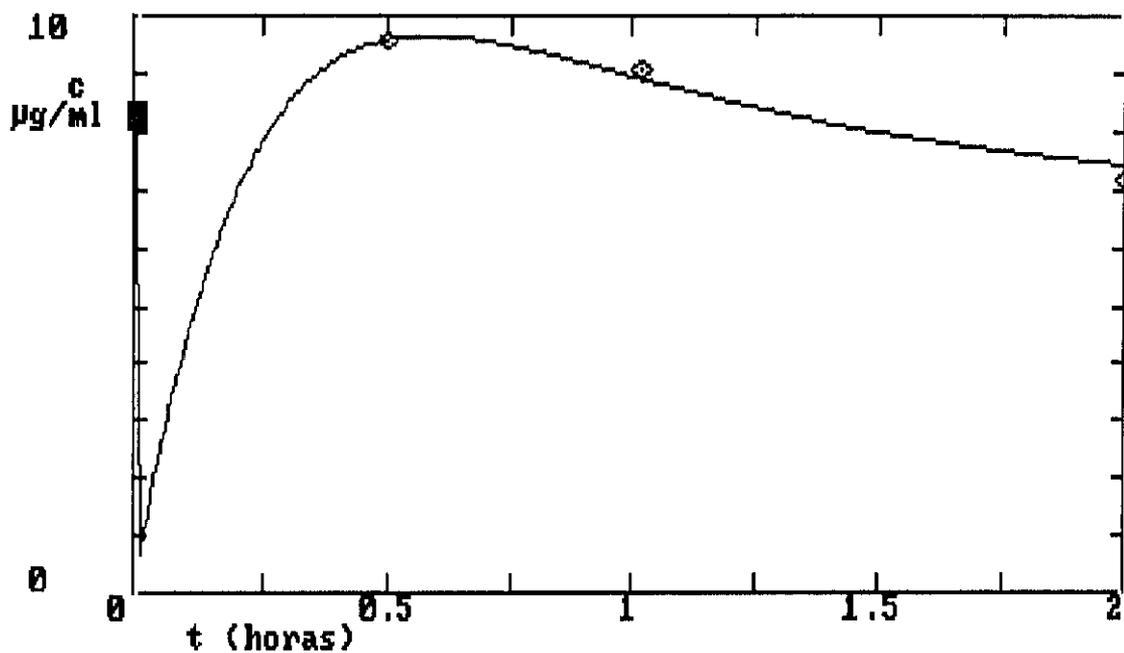
$$V = \frac{D}{c_0}, \text{ donde } c_0 = \frac{c_n}{e^{-K_d t_n}} \quad \text{III.12}$$

Tanto en el método general como en el de dos puntos, cuando el volumen de distribución se expresa, en el capítulo de Resultados, en l/Kg, se utilizó el peso total del paciente, independientemente de que presentara obesidad o ascitis.

Cuando el aclaramiento se expresa en ml/min/Kg se utilizó el peso ideal, que se calculó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \text{HOMBRES: } PCI \text{ (Kg)} &= 50 + 2.3 * \left[\frac{\text{talla (metros)}}{0.0254} - 60 \right] \\ \text{MUJERES: } PCI \text{ (Kg)} &= 45.5 + 2.3 * \left[\frac{\text{talla (metros)}}{0.0254} - 60 \right] \end{aligned} \quad \text{III.13}$$

cuando el peso real era inferior al peso ideal, el cálculo se hacía sobre el peso real.



Cálculo de $c_{\text{máx}}$ y de $t_{\text{máx}}$ en el paciente n° 25

FIGURA III.1.- Método gráfico para determinar $c_{\text{máx}}$ y $t_{\text{máx}}$ en modelos bicompartimentales

III.3.6 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Se creó una base de datos con el programa estadístico *R-SIGMA* de *Horus Hardware S.A.* Con este programa se calculó la estadística básica así como las comparaciones, relaciones y estimaciones entre las variables estudiadas.

El ajuste a la normalidad se calculó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Por medio de la F de Snedecor se comprobó la homogeneidad de varianzas (Carrasco, 1989).

-Como pruebas paramétricas se utilizaron las siguientes (Carrasco, 1989):

Para la comparación de dos medias (contraste bilateral): Prueba de la t de Student (para variables pareadas y no pareadas). En el último caso, si la variable no presentaba las varianzas homogéneas en los dos grupos estudiados se aplicó la corrección de Welch.

Para conocer el grado de asociación entre dos variables cuantitativas se empleó el coeficiente de correlación de Pearson, y se realizó a continuación un análisis de regresión.

-Como pruebas no paramétricas se utilizaron las siguientes (Carrasco, 1989):

Para la comparación de una variable cuantitativa entre más de dos grupos: Prueba de Kruskal-Wallis.

Para la comparación de una variable cuantitativa entre dos grupos. Prueba de Mann-Whitney.

Para estudiar la asociación entre dos variables cualitativas: Prueba exacta de Fisher.

Además, se determinó la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de las pruebas diagnósticas estudiadas (Griner, 1981).

En todos los casos, se consideró como significativo una $p < 0.05$.

IV RESULTADOS

IV.1 TÉCNICA ANALÍTICA

La técnica analítica se ha validado según se describe en el apartado III.4.4.5 de este trabajo. Los resultados de linealidad, precisión (dentro del mismo día -repetibilidad- y en días distintos -reproducibilidad-), exactitud (recuperación) y estabilidad son los que se detallan en las tablas IV.1 a IV.7. La figura IV.1 es un espectro de absorción de la cafeína entre 225-325 nm realizado en el detector del cromatógrafo. Las figuras IV.2 a IV.4 son distintos cromatogramas correspondientes a varias muestras de suero y saliva de un sujeto o paciente, representante de cada uno de los grupos estudiados (sanos, cirróticos compensados y cirróticos descompensados). La figura IV.5 es un cromatograma de la cafeína y sus tres principales metabolitos para comprobar la especificidad de la técnica. La figura IV.6 representa la recta de calibración obtenida a partir de las muestras patrón, según se especifica en el apartado correspondiente del capítulo de material y métodos.

Tabla IV.1.- Linealidad de la respuesta. Límite de detección

<u>Concentración ($\mu\text{g/ml}$)</u>	<u>Respuesta ($\text{Mv}\cdot\text{min}$)</u>
20	6.542
20	6.555
10	3.322
10	3.318
5	1.663
5	1.667
1	0.335
1	0.346

Ecuación de regresión: $Y = 0.00 + 3.043 X$

Número de puntos = 8

$r = 0.99997$

$r^2 = 0.99995$

Varianza = 0.006418

LÍMITE DE DETECCIÓN = BLANCO + 3σ = $0.00 + 3 \sqrt{0.006418} = 0.24 \mu\text{g/ml}$

Tabla IV.2.- Repetibilidad
(Precisión en el mismo día)

Nº Repetición	Resultado (µg/ml)
1	4.80
2	4.80
3	4.80
4	4.88
5	4.81
6	4.80
7	4.78
8	4.81
9	4.79
10	4.81

MEDIA: 4.81
DESVIACIÓN TÍPICA: 0.03
C.V.: 0.56%

Tabla IV.3.- Reproducibilidad
(Precisión en distintos días)

Nº Repetición	Resultado (µg/ml)
1	4.83
2	4.65
3	4.92
4	4.74
5	4.68
6	4.70
7	4.67
8	4.85
9	4.82
10	4.77

MEDIA: 4.76
DESVIACIÓN TÍPICA: 0.090
C.V.: 1.90%

Tabla IV.5.- Recuperación

A.- Exactitud del proceso de extracción para las muestras de suero

Cantidad añadida ($\mu\text{g/ml}$)	Cantidad recuperada ($\mu\text{g/ml}$)	Coef. de recuperación (%)
1	1.26	126
1	1.12	112
10	10.70	107
10	10.79	108
20	21.26	106
20	21.01	105

RECUPERACIÓN MEDIA: 110.67 %

DESVIACIÓN TÍPICA: 7.89 %

B.- Exactitud del proceso de extracción para las muestras de saliva

Cantidad añadida ($\mu\text{g/ml}$)	Cantidad recuperada ($\mu\text{g/ml}$)	Coef. de recuperación (%)
1.00	1.20	120
1.00	1.17	117
10.00	10.44	104
10.00	9.89	99
20.00	20.15	101
20.00	21.24	106

RECUPERACIÓN MEDIA: 107.83 %

DESVIACIÓN TÍPICA: 8.66

Tabla IV.6.- Estabilidad de patrones y controles
(Concentraciones en $\mu\text{g/ml}$)

PERIODO I (0 h)	PERIODO II (24 h)	PERIODO III (48 h)	PERIODO IV (7 días)
20.00	19.88	20.10	20.31
20.00	19.88	20.09	20.14
10.00	10.09	10.08	10.25
10.00	10.14	10.10	10.14
5.00	5.02	5.07	5.16
5.00	5.02	5.05	5.21
1.00	1.03	1.04	1.06
1.00	1.01	1.06	1.05

Tabla IV.7.- Estabilidad de las muestras problema

Muestra n°	Concentración ($\mu\text{g/ml}$) $t=0$	Concentración ($\mu\text{g/ml}$) $t=3$ meses, $T^* = -30^{\circ}\text{C}$	Variación (%)
1	7.15	6.55	-8.39
2	6.23	6.20	-4.82
3	6.28	6.44	2.55
4	5.36	5.61	4.66
5	5.20	4.95	4.81
6	5.17	5.15	-0.39
7	3.13	3.32	6.39
8	2.27	2.21	-2.64
9	1.59	1.42	-10.69
10	0.74	0.68	-8.11

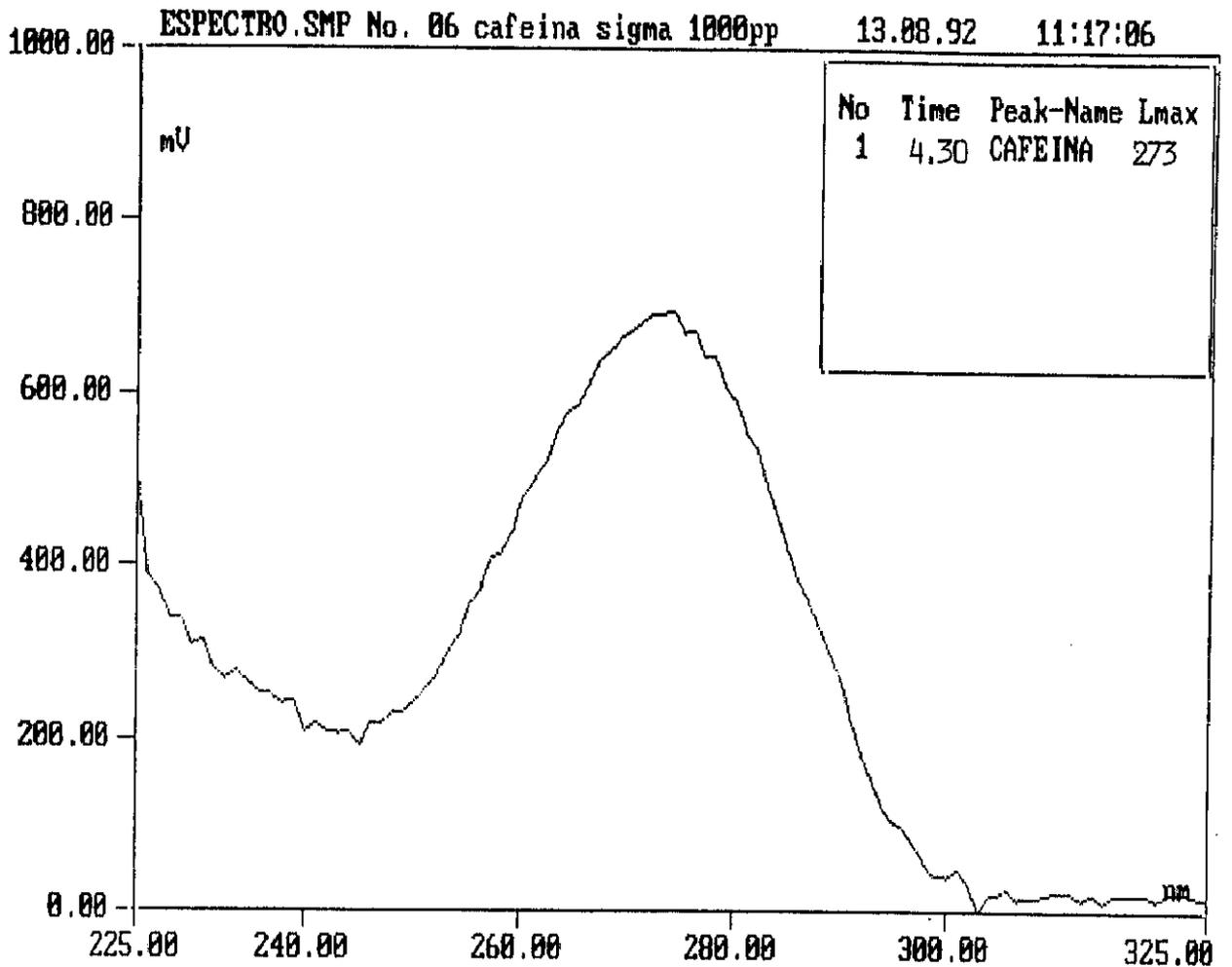


Figura IV.1.- ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE LA CAFEÍNA ENTRE 225nm Y 325nm

A) Muestras de suero

WINDOW-PLOT TIME: 0.11 .. 4.90 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

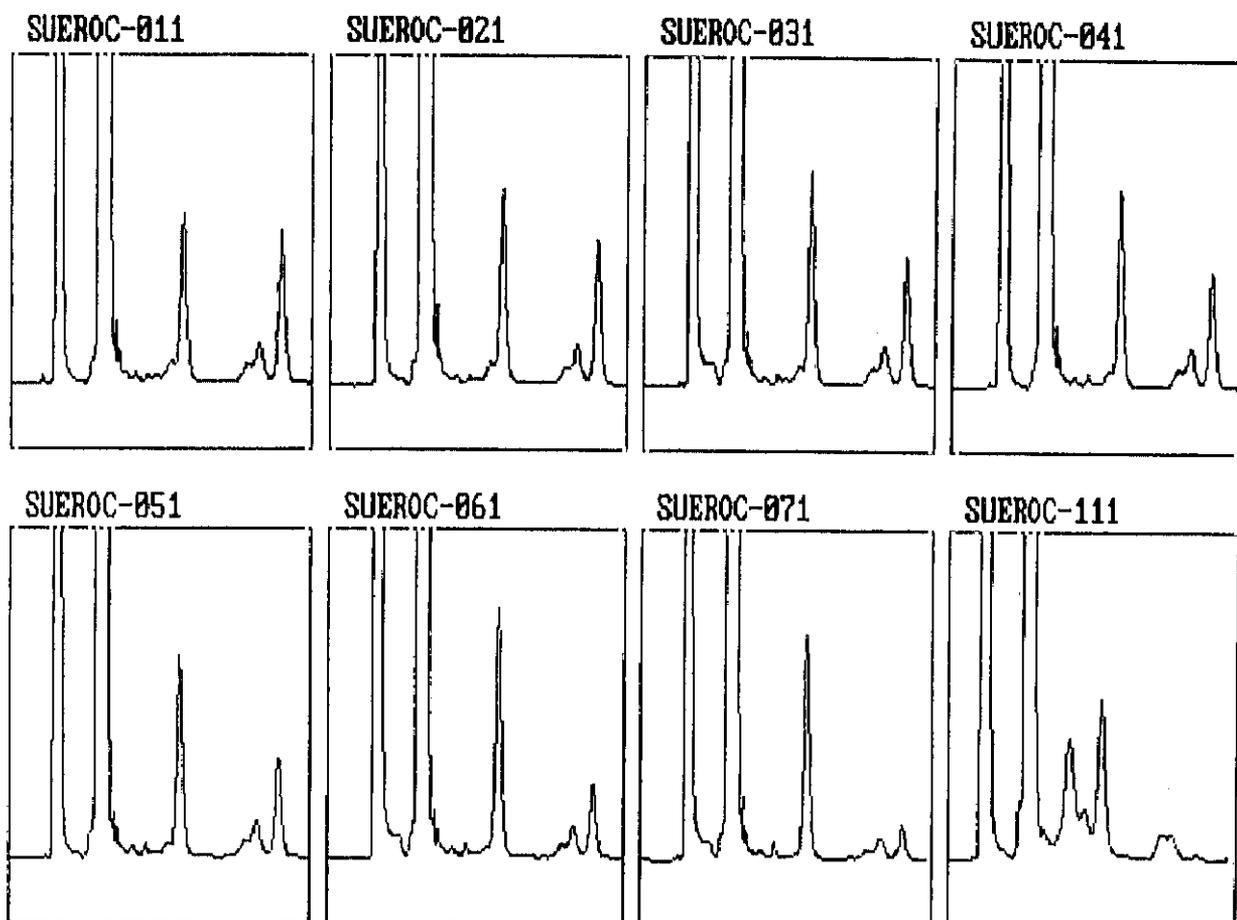


Figura IV.II.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN SUJETO SANO

B) Muestras de saliva

WINDOW-PLOT TIME: 0.11 .. 5.88 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

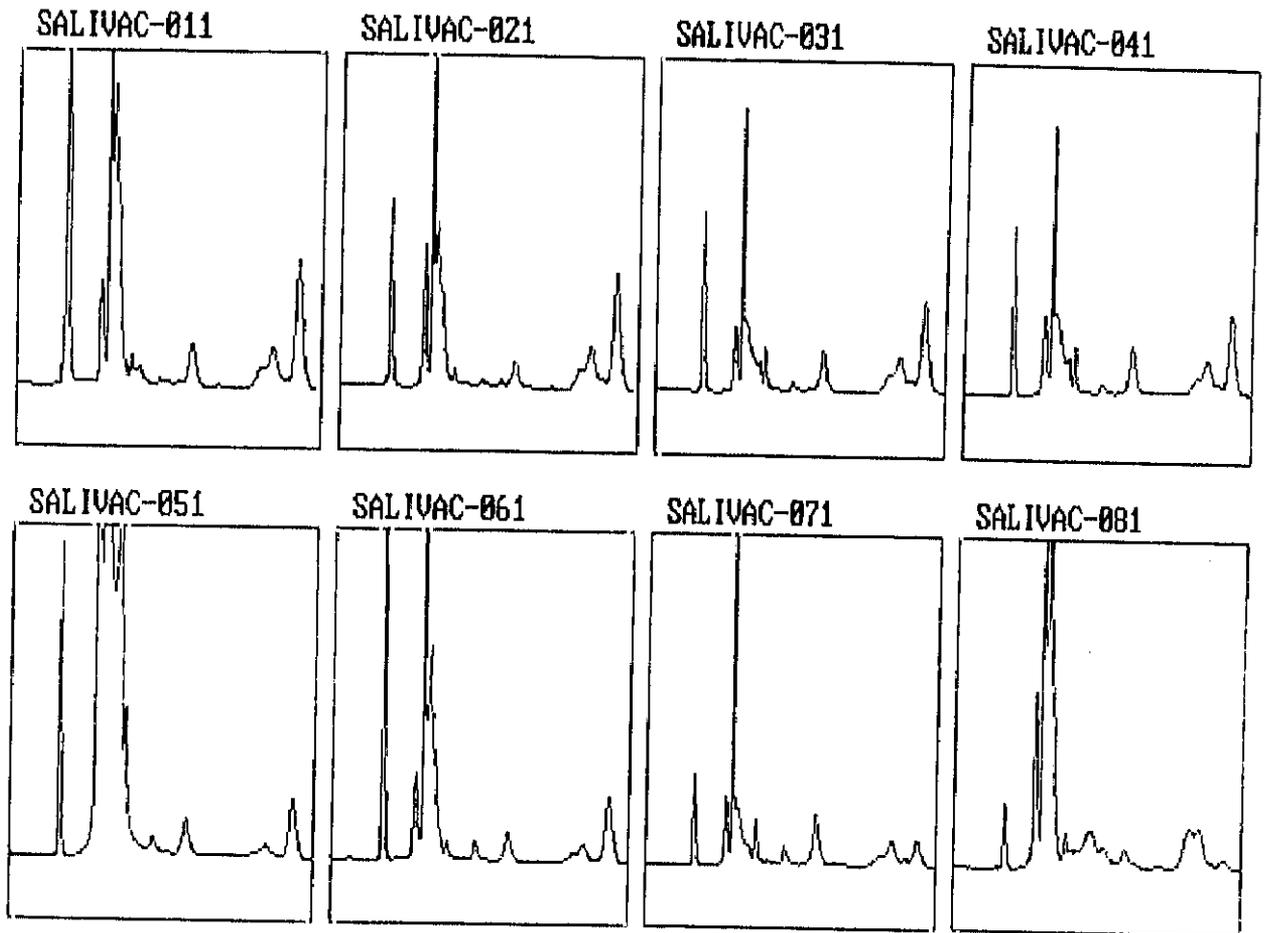


Figura IV.II.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN SUJETO SANO (SIGUE)

A) Muestras de suero

WINDOW-PLOT TIME: 0.10 .. 4.90 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

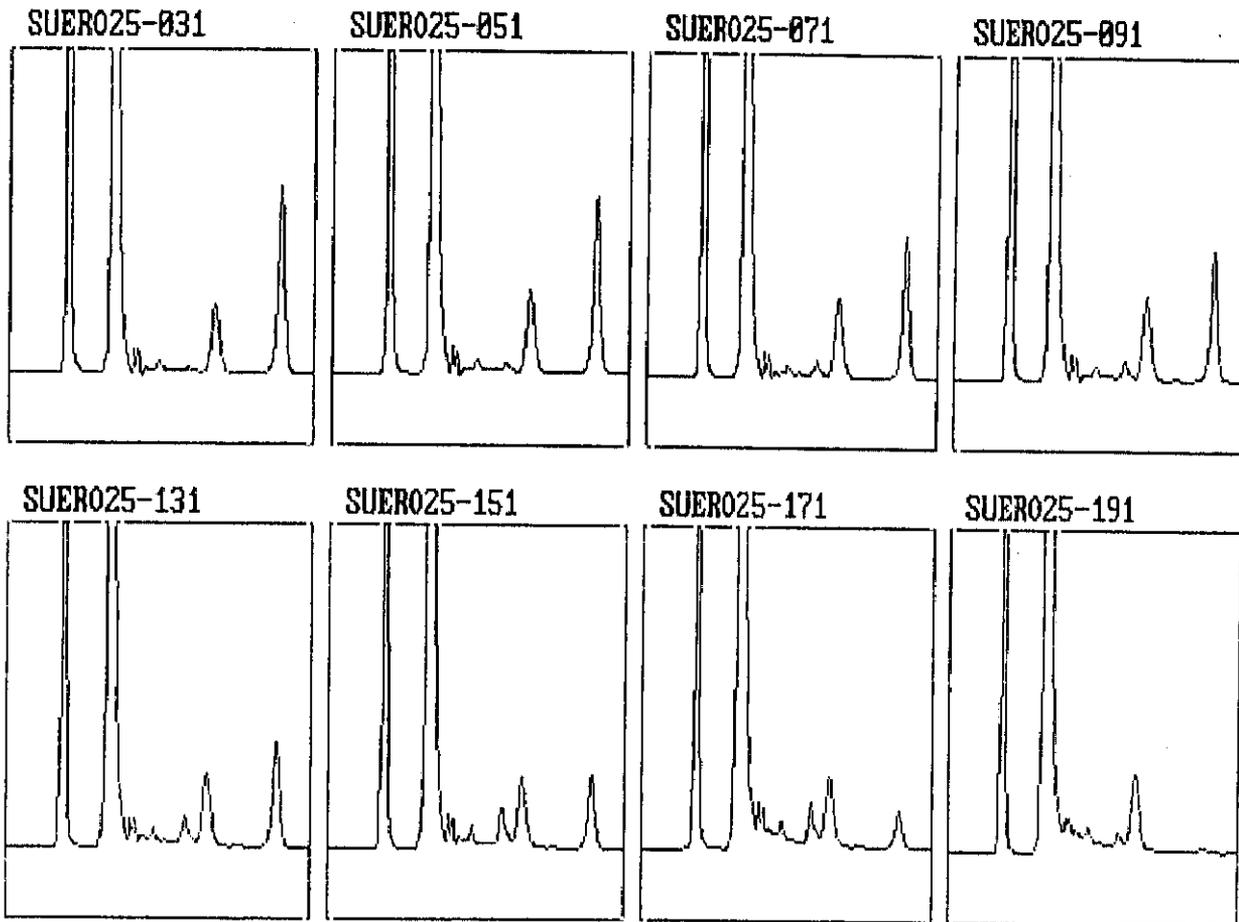


Figura IV.3.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN PACIENTE CIRRÓTICO COMPENSADO

B) Muestras de saliva

WINDOW-PLOT TIME: 0.10 .. 4.90 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

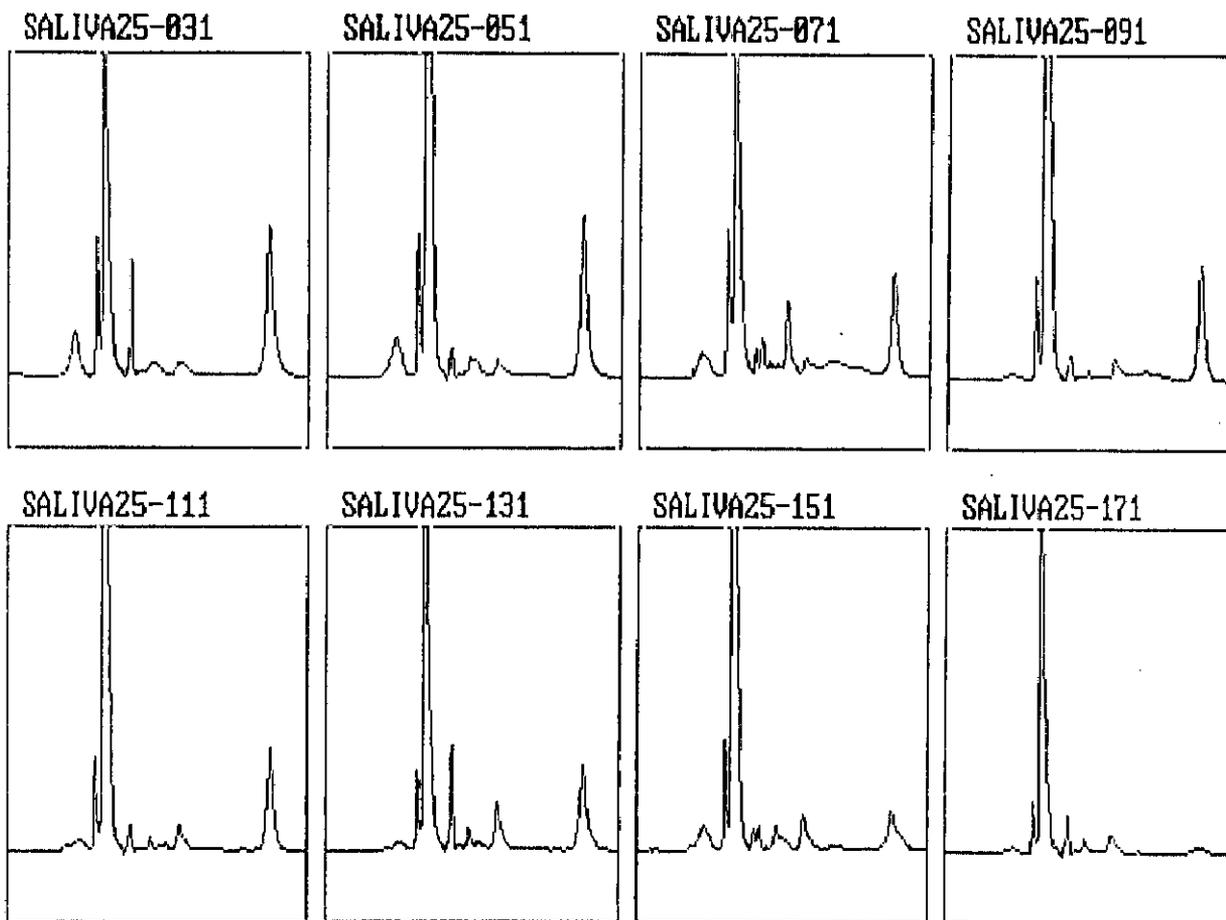


Figura IV.3.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN PACIENTE CIRRÓTICO COMPENSADO (SIGUE)

A) Muestras de suero

WINDOW-PLOT TIME: 0.10 .. 4.90 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

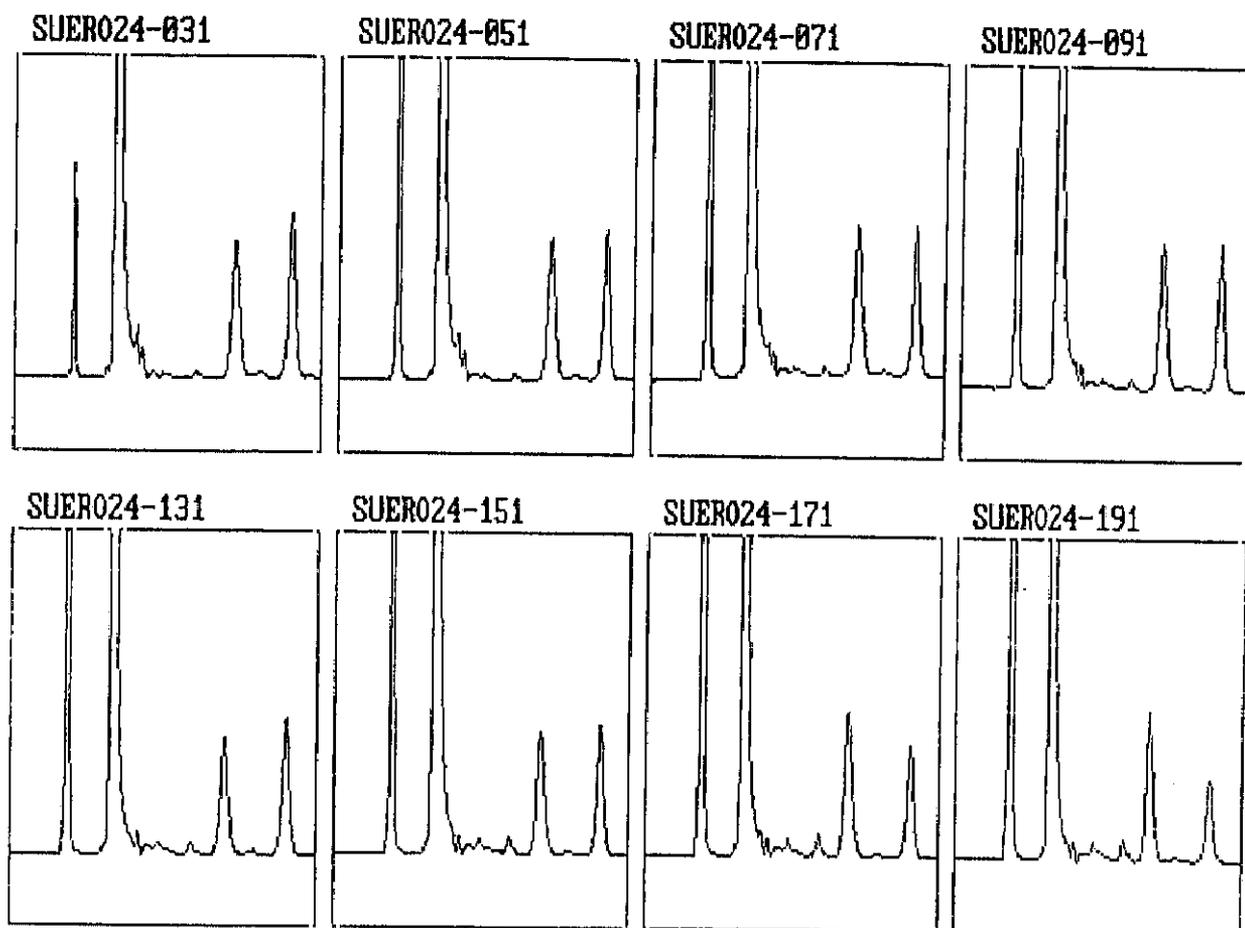


Figura IV.4.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN PACIENTE CIRRÓTICO DESCOMPENSADO

B) Muestras de saliva

WINDOW-PLOT TIME: 0.10 .. 4.90 min SCALE: 0.00 .. 25.00 mV

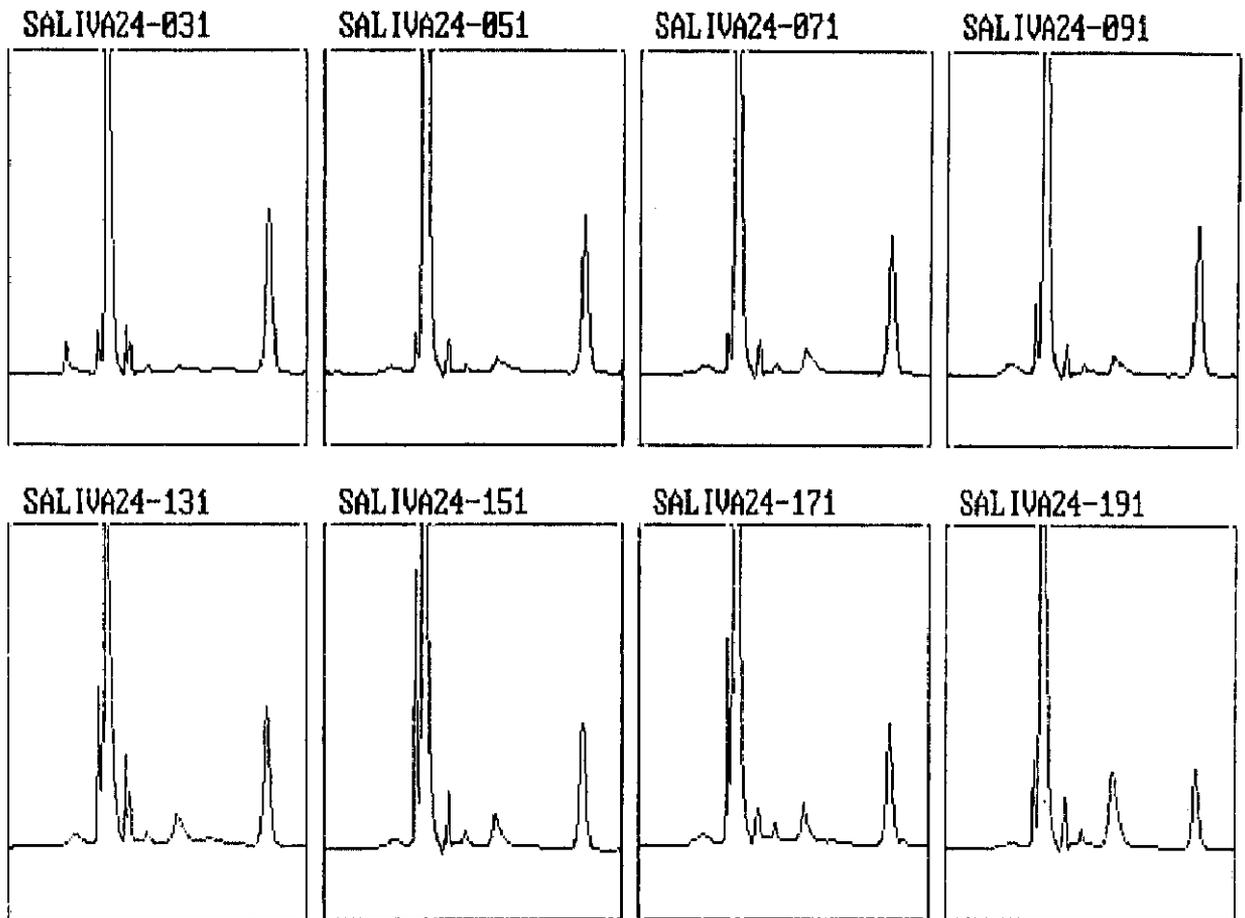
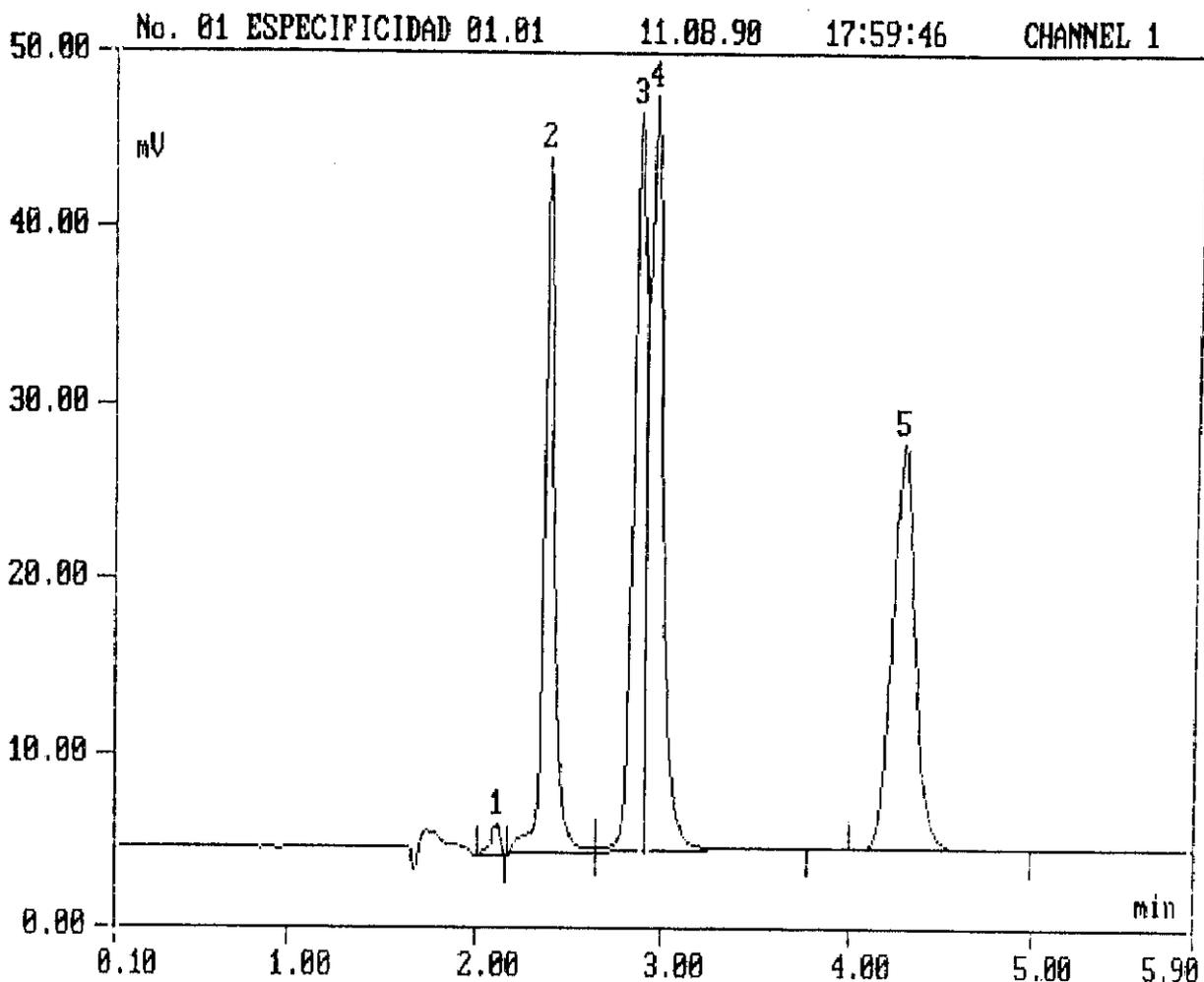


Figura IV.4.- CROMATOGRAMAS DE MUESTRAS DE UN PACIENTE CIRRÓTICO DESCOMPENSADO (SIGUE)



KONTRON Integrator 3.40 Result Report

Chromatogram Identification ESPECIF: CAFEINA+3METABOLITOS DIMET. EN AGUA-
 1 ESPECIFICIDAD 01.01 Chnl.. 1 Date.. 11.08.90 Time.. 17:59:46
 Program File.... CIEN
 Method File..... TEST
 Peak Table..... TESIS Auto-generated
 Parameter Table. PRUEBA primero
 Result File.....
 Document File....

No.	PNo.	Ret.Ti min	Name	Type	Area mV*min	Rel.Ar %	Amount mcg.ml	N_plat
1	?	2.11	?	MLR	0.119	0.86	?	4682
2	1	2.38	TEOBROMINA	ML	2.854	20.58	8.68	8407
3	2	2.86	PARAXANTINA	M	3.323	23.96	10.11	?
4	3	2.95	TEOFILINA	M R	4.225	30.47	12.86	?
5	4	4.29	CAFEINA	MLR	3.346	24.13	10.18	5165

Figura IV.5.- CROMATOGRAMA DE UNA SOLUCIÓN DE CAFEÍNA Y SUS TRES PRINCIPALES METABOLITOS

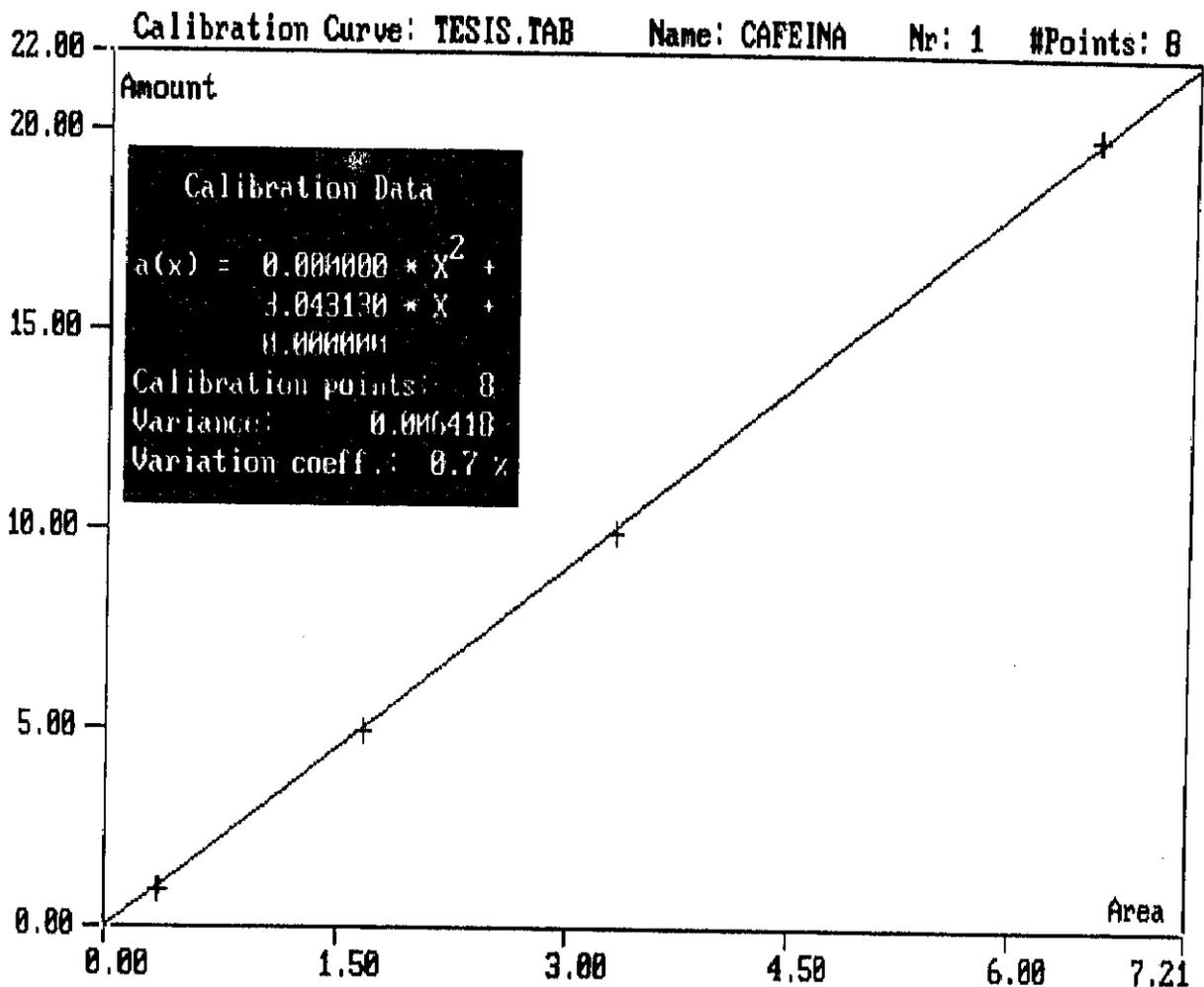


Figura IV.6.- RECTA DE CALIBRACIÓN DE CAFEÍNA Y DATOS DE LA REGRESIÓN LINEAL OBTENIDA

IV.2 DATOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS PACIENTES

De cada paciente se recogieron los datos correspondientes a las pruebas habituales de función hepática. En la tabla IV.8 se informa sobre los datos clínicos y analíticos que se utilizaron para establecer la puntuación de Child-Pugh, así como la puntuación obtenida para cada paciente. Esta puntuación osciló entre 5 y 14. El paciente nº 6 tuvo que ser excluido del estudio, al no presentar a lo largo de 48 horas disminución en la concentración de cafeína, por lo que no pudieron establecerse sus parámetros farmacocinéticos.

Tabla IV.8.- Datos clínicos y analíticos del grupo de pacientes (puntuación Child-Pugh)

Paciente (Nº)	Encefalopatía (grado)	Ascitis	Bilirrubina (mg/dl)	Albúmina (g/dl)	Protrombina Tasa (%)	Puntuación Child-Pugh (nº)
1	no	ligera	3.90	2.75	40	11
2	no	ligera	1.17	2.76	53	7
3	II	masiva	2.67	2.77	52	10
4	II	masiva	7.05	2.80	57	11
5	no	ligera	1.25	3.40	69	7
6	III	masiva	6.42	2.65	44	14
7	III	masiva	1.58	2.40	45	12
8	I	no	1.86	3.27	60	7
9	no	no	1.53	3.66	82	5
10	no	no	1.12	4.70	100	5
11	no	ligera	11.1	3.15	41	9
12	no	ligera	1.46	3.16	82	7
13	no	no	2.84	3.95	54	6
14	III	ligera	2.40	3.01	67	10
15	no	ligera	2.56	3.55	58	7
16	no	ligera	0.69	3.56	100	6

Tabla IV.8.- (continuación)

Paciente (Nº)	Encefalopatía (grado)	Ascitis	Bilirrubina (mg/dl)	Albúmina (g/dl)	Protrombina Tasa (%)	Puntuación Child-Pugh (nº)
17	no	no	1.15	3.57	67	5
18	no	no	1.50	4.04	80	5
19	III	masiva	7.44	2.43	65	13
20	no	no	3.61	2.84	41	9
21	no	ligera	15.4	2.92	43	10
22	III	ligera	7.80	2.94	22	13
23	no	no	1.77	3.93	76	5
24	II	no	8.02	2.98	65	9
25	no	no	0.74	4.41	89	5
26	I	masiva	0.83	2.22	64	10
27	no	no	0.80	4.20	70	5
28	no	no	1.35	3.97	79	5
29	II	masiva	3.98	2.50	70	12
30	no	ligera	4.03	3.38	62	9
31	no	ligera	1.00	3.22	86	6
32	no	no	1.16	4.83	100	5

IV.3 PARAMETROS Y MODELO FARMACOCINETICOS DE LA CAFEÍNA

En las tablas IV.9 a IV.18 se muestran los parámetros farmacocinéticos individuales (ABC , K_{el} , β , V , Cl , $t_{1/2}$, K_{ab} , $c_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$), así como el Criterio de Akaike, para los modelos mono y bicompartimentales. La vida media se ha calculado a partir de K_{el} o de β , en función del modelo farmacocinético seleccionado. Los parámetros farmacocinéticos han sido hallados tanto a partir de las muestras de suero como en las de saliva. Los espacios en blanco de los valores de beta y del Criterio de Akaike para el modelo bicompartimental (AIC_2) corresponden a sujetos o pacientes cuyos datos experimentales no se pudieron ajustar al modelo de dos compartimentos. Se ha seleccionado como modelo farmacocinético que mejor ajustaba los datos experimentales de cada paciente el que menor valor de AIC presentaba: MAICE (Minimum Akaike's Information Criterion Estimation) (Yamaoka, 1978). Las figuras IV.7 a IV.12 son gráficas de un sujeto de cada grupo (los mismos sujetos cuyos cromatogramas se mostraron en las figuras IV.2 a IV.4), ajustadas a los puntos experimentales concentración-tiempo, de suero y de saliva, para los modelos mono y bicompartimentales. Las tablas IV.19 y IV.20 representan las medias y desviaciones típicas de los parámetros farmacocinéticos halladas en los distintos grupos investigados.

Tabla IV.9.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , β) y valor del AIC obtenidos en sujetos sanos (suero)

Sujeto N°	ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
1	82.36	0.134	0.134	7.5	11.5	MONO
2	57.52	0.11	0.112	-9.99	-6.34	BI
3	25.72	0.33	0.33	-3.07	0.93	MONO
4	97.66	0.108	0.108	-16.46	-12.46	MONO
5	50.59	0.149	0.167	-21.37	-21.39	BI
6	41.75	0.227	0.227	-22.56	-18.56	MONO
7	62.65	0.132	0.132	-18.81	-14.79	MONO
8	100.95	0.105	--	-11.70	--	MONO
9	73.49	0.162	--	-1.36	--	MONO
10	75.59	0.096	0.098	-17.12	-19.16	BI
11	69.7	0.13	0.18	-5.64	-4.62	MONO
12	29.07	0.14	0.155	-6.34	-22.52	BI
13	19.29	0.326	0.42	0.168	-2.57	BI
14	20.72	0.349	0.348	0.529	4.53	MONO

ABC: Area Bajo la Curva

K_{el} : Constante de eliminación para un modelo monocompartmental

Beta: Constante híbrida de eliminación para un modelo bicompartimental

AIC₁: Criterio de Akaike para un ajuste monocompartmental

AIC₂: Criterio de Akaike para un ajuste bicompartimental

MODELO: MONO=monocompartmental; BI=bicompartimental

Tabla IV.10.- Parámetros farmacocinéticos (V, Cl y $t_{1/2}$) obtenidos en sujetos sanos (suero)

Sujeto Nº	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	$t_{1/2}$ (h)
1	25.37	0.46	3.400	1.033	5.17
2	43.46	0.51	4.868	1.017	6.19
3	32.99	0.45	10.886	2.783	2.10
4	26.55	0.51	2.867	0.917	6.42
5	33.14	0.39	5.535	1.167	4.15
6	29.55	0.57	6.707	2.150	3.05
7	33.86	0.50	4.469	1.100	5.25
8	26.42	0.56	2.774	0.983	6.60
9	23.52	0.44	3.810	1.417	4.28
10	37.80	0.63	3.704	1.033	7.07
11	30.90	0.61	4.017	1.417	5.33
12	62.14	0.80	9.632	2.300	4.47
13	34.56	0.51	14.515	3.783	1.65
14	38.72	0.65	13.514	3.750	1.99

V: Volumen aparente de distribución (expresado en l y en l/Kg)
 Cl: Aclaramiento (expresado en l/h y en ml/min/Kg)
 $t_{1/2}$: Vida media

Tabla IV.11.- Parámetros farmacocinéticos (K_{ab} , $c_{máx}$ y $t_{máx}$) obtenidos en sujetos sanos (suero)

Sujeto Nº	K_{ab} (h^{-1})	$c_{máx}$ ($\mu g/ml$)	$t_{máx}$ (min)
1	16.93	10.75	17.29
2	5.96	7.22	40.95
3	2.47	8.03	56.44
4	4.03	11.90	55.37
5	2.32	6.65	60.00
6	2.67	9.41	60.54
7	1.06	8.81	134.69
8	4.16	11.70	54.44
9	5.28	13.90	40.85
10	1.14	6.45	127.00
11	4.50	10.59	48.66
12	0.71	5.40	155.00
13	0.49	3.60	130.00
14	6.64	11.89	28.10

K_{ab} : Constante de absorción

$c_{máx}$: Concentración máxima alcanzada

$t_{máx}$: Tiempo en que se alcanza la $c_{máx}$, tras la administración

Tabla IV.12.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , β) y valor del AIC obtenidos en pacientes cirróticos (suero)

Paciente Nº	Cirrosis grado	ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
1	DESCOMP	316.19	0.039	0.0088	2.45	-8.80	BI
2	COMPENS	440.14	0.0146	0.0138	16.76	9.58	BI
3	DESCOMP	217.27	0.0234	0.0068	12.44	15.91	MONO
4	DESCOMP	844.06	0.0087	--	4.41	--	MONO
5	COMPENS	219.62	0.035	0.024	-7.88	-5.66	MONO
7	DESCOMP	1560.07	0.0048	--	-18.04	--	MONO
8	COMPENS	134.17	0.078	0.069	-1.73	0.36	MONO
9	COMPENS	251.13	0.038	0.033	-1.38	1.55	MONO
10	COMPENS	141.71	0.068	0.064	-0.79	-6.21	BI
11	DESCOMP	639.86	0.0116	--	12.12	--	MONO
12	COMPENS	117.83	0.079	0.046	-5.58	-6.27	BI
13	COMPENS	471.66	0.017	0.017	5.84	9.83	MONO
14	DESCOMP	580.85	0.0105	0.0087	-21.97	-15.34	MONO
15	COMPENS	119.1	0.0532	0.0379	13.04	-3.25	BI
16	COMPENS	129.68	0.0541	0.053	10.43	14.28	MONO

ABC: Area Bajo la Curva

K_{el} : Constante de eliminación para un modelo monocompartmental

Beta: Constante híbrida de eliminación para un modelo bicompartimental

AIC₁: Criterio de Akaike para un ajuste monocompartmental

AIC₂: Criterio de Akaike para un ajuste bicompartimental

MODELO: MONO=monocompartmental; BI=bicompartimental

Tabla IV.12.- -SIGUE-

Paciente Nº	Cirrosis grado	ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
17	COMPENS	515.21	0.0151	0.0151	-18.47	-14.87	MONO
18	COMPENS	183.76	0.039	0.0326	7.77	11.54	MONO
19	DESCOMP	400.48	0.0194	0.0159	-3.09	-7.26	BI
20	DESCOMP	756.14	0.0107	0.0085	-25.44	-26.23	BI
21	DESCOMP	913.86	0.0081	0.0084	-20.65	19.03	MONO
22	DESCOMP	1423.84	0.0041	0.0039	-20.62	13.08	MONO
23	COMPENS	456.57	0.0192	0.0192	17.12	21.09	MONO
24	DESCOMP	519.50	0.0137	0.013	-23.31	-24.80	BI
25	COMPENS	126.69	0.0707	0.0643	-4.04	-6.09	BI
26	DESCOMP	1211.03	0.0052	--	-15.51	--	MONO
27	COMPENS	338.82	0.0239	0.0234	-15.41	-13.90	MONO
28	COMPENS	129.48	0.0774	--	-14.78	--	MONO
29	DESCOMP	776.66	0.0193	0.010	-16.86	-42.34	BI
30	DESCOMP	302.43	0.0209	0.0206	-8.87	-4.87	MONO
31	COMPENS	266.24	0.0267	0.0267	-18.00	-14.08	MONO
32	COMPENS	85.64	0.133	0.132	-5.89	-1.88	MONO

Tabla IV.13.- Parámetros farmacocinéticos (V, Cl y $t_{1/2}$) obtenidos en pacientes cirróticos (suero)

Paciente Nº	Cirrosis grado	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	$t_{1/2}$ (h)
1	DESCOMP	180.45	2.2	1.588	0.400	78.77
2	COMPENS	47.32	0.68	0.653	0.200	50.23
3	DESCOMP	55.09	1.12	1.289	0.433	29.62
4	DESCOMP	38.16	0.76	0.332	0.117	79.67
5	COMPENS	36.43	0.55	1.275	0.367	19.80
7	DESCOMP	37.29	0.7	0.179	0.067	144.41
8	COMPENS	26.76	0.39	2.087	0.583	8.89
9	COMPENS	29.34	0.47	1.115	0.317	18.24
10	COMPENS	30.94	0.45	1.98	0.533	10.83
11	DESCOMP	37.76	0.52	0.438	0.133	59.75
12	COMPENS	58.46	0.97	2.689	0.750	15.07
13	COMPENS	34.94	0.56	0.594	0.167	40.77
14	DESCOMP	45.9	0.72	0.482	0.133	66.01
15	COMPENS	64.93	0.65	2.461	0.583	18.29
16	COMPENS	39.91	0.5	2.159	0.483	12.81

V: Volumen aparente de distribución (expresado en l y en l/Kg)
 Cl: Aclaramiento (expresado en l/h y en ml/min/Kg)
 $t_{1/2}$: Vida media

Tabla IV.13.- -SIGUE-

Paciente Nº	Cirrosis grado	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	t _{1/2} (h)
17	COMPENS	35.96	0.55	0.543	0.150	45.90
18	COMPENS	39.08	0.41	1.524	0.450	17.77
19	DESCOMP	46.42	0.6	0.738	0.183	43.59
20	DESCOMP	52.24	0.68	0.444	0.150	81.55
21	DESCOMP	37.78	0.69	0.306	0.117	85.57
22	DESCOMP	48.05	0.69	0.197	0.050	169.06
23	COMPENS	31.93	0.38	0.613	0.200	36.10
24	DESCOMP	42.54	0.56	0.553	0.133	53.32
25	COMPENS	34.46	0.49	2.216	0.517	10.78
26	DESCOMP	44.08	0.61	0.231	0.067	132.28
27	COMPENS	34.56	0.41	0.826	0.267	29.00
28	COMPENS	27.93	0.55	2.162	0.700	8.96
29	DESCOMP	47.43	0.77	0.498	0.133	66.01
30	DESCOMP	44.31	0.54	0.926	0.233	33.16
31	COMPENS	39.4	0.59	1.052	0.267	25.96
32	COMPENS	24.77	0.41	3.27	0.917	5.25

Tabla IV.14.- Parámetros Farmacocinéticos (K_{ab} , $c_{máx}$ y $t_{máx}$) obtenidos en pacientes cirróticos (suero)

Sujeto Nº	K_{ab} (h^{-1})	$c_{máx}$ ($\mu g/ml$)	$t_{máx}$ (min)
1	13.55	7.05	15.00
2	2.95	6.45	120.00
3	2.09	4.90	130.42
4	1.11	7.36	264.17
5	2.81	7.39	94.82
7	7.44	8.20	59.28
8	1.74	9.64	112.09
9	19.37	11.48	19.35
10	27.98	16.35	7.00
11	0.31	7.74	660.64
12	0.94	7.05	60.00
13	4.89	8.90	69.71
14	46.40	6.39	10.86
15	2.28	4.05	145.00
16	0.91	6.53	197.87

K_{ab} : Constante de absorción

$c_{máx}$: Concentración máxima alcanzada

$t_{máx}$: Tiempo en que se alcanza la $c_{máx}$ tras la administración

Tabla IV.14.- -SIGUE-

Sujeto N°	K_{ab} (h ⁻¹)	$C_{máx}$ ($\mu\text{g/ml}$)	$t_{máx}$ (min)
17	45.80	12.57	10.51
18	2.53	8.09	100.50
19	4.17	10.00	38.00
20	1.73	6.80	110.00
21	48.90	12.39	10.68
22	27.29	7.66	19.36
23	1.45	8.33	181.34
24	9.04	8.05	25.00
25	7.33	9.60	30.00
26	0.87	9.04	354.70
27	37.96	11.82	11.66
28	4.51	10.15	55.03
29	7.73	9.20	30.00
30	3.60	6.53	86.32
31	5.85	10.49	55.53
32	0.63	12.34	187.77

Tabla IV.15.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , β) y valor del AIC obtenidos en sujetos sanos (saliva)

Sujeto Nº	ABC (mg/1)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
1	101.67	0.099	0.085	12.94	12.94	MONO
2	101.93	0.084	0.049	12.92	-5.66	BI
3	19.61	0.713	0.713	9.98	13.98	MONO
4	67.95	0.128	0.125	-7.37	-7.26	MONO
5	51.12	0.138	0.135	-3.24	0.15	MONO
6	21.84	0.356	0.356	-3.57	--	MONO
7	58.81	0.129	0.129	-1.70	--	MONO
8	65.22	0.127	0.125	-4.73	-0.92	MONO
9	64.29	0.339	0.339	15.78	19.78	MONO
10	74.47	0.109	0.099	6.47	0.26	BI
11	65.21	0.130	0.132	-23.25	-18.93	MONO
12	82.57	0.073	0.024	-1.49	2.45	MONO
13	62.88	0.088	0.150	6.08	-0.48	BI
14	32.17	0.279	0.270	5.01	8.54	MONO

ABC: Area Bajo la Curva

K_{el} : Constante de eliminación para un modelo monocompartmental

Beta: Constante híbrida de eliminación para un modelo bicompartmental

AIC₁: Criterio de Akaike para un ajuste monocompartmental

AIC₂: Criterio de Akaike para un ajuste bicompartmental

MODELO: MONO=monocompartmental; BI=bicompartmental

Tabla IV.16.- Parámetros farmacocinéticos (V, Cl y t_{1/2}) obtenidos en sujetos sanos (saliva)

Sujeto Nº	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	t _{1/2} (h)
1	27.82	0.51	2.754	0.833	7.00
2	56.06	0.66	2.747	0.567	14.15
3	20.03	0.27	14.278	3.667	0.97
4	32.20	0.62	4.121	1.317	5.42
5	39.69	0.47	5.477	1.150	5.02
6	36.01	0.69	12.821	4.117	1.95
7	36.91	0.54	4.761	1.167	5.37
8	33.80	0.72	4.293	1.517	5.46
9	12.85	0.24	4.355	1.617	2.04
10	37.98	0.63	3.760	1.050	7.00
11	33.03	0.65	4.294	1.517	5.33
12	46.45	0.60	3.391	0.800	9.50
13	29.69	0.44	4.453	1.167	4.62
14	31.20	0.52	8.704	2.417	2.48

V: Volumen aparente de distribución (expresado en l y en l/Kg)
 Cl: Aclaramiento (expresado en l/h y en ml/min/Kg)
 t_{1/2}: Vida media

Tabla IV.17.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , β) y valor del AIC obtenidos en pacientes cirróticos (saliva)

Paciente Nº	Cirrosis grado	ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
1	DESCOMP	118.38	0.0814	0.0814	19.03	24.69	MONO
2	COMPENS	740.04	0.0086	0.0087	21.90	18.81	BI
3	DESCOMP	247.34	0.0308	0.0289	25.89	29.44	MONO
4	DESCOMP	1189.65	0.008	0.0078	-0.40	2.74	MONO
5	COMPENS	237.29	0.0398	0.0282	13.04	11.13	BI
7	DESCOMP	1810.47	0.0088	0.0043	-2.42	-14.91	BI
8	COMPENS	130.61	0.0683	0.0897	14.92	11.14	BI
9	COMPENS	196.73	0.0411	0.0334	12.69	-5.12	BI
10	COMPENS	111.73	0.0601	0.0545	6.78	-7.27	BI
11	DESCOMP	518.40	0.0123	0.0097	13.83	17.34	MONO
12	COMPENS	105.68	0.0698	0.0555	13.78	12.29	BI
13	COMPENS	504.96	0.00906	0.0031	23.84	25.56	MONO
14	DESCOMP	345.00	0.0143	0.0098	26.51	11.23	BI
15	COMPENS	145.85	0.0162	0.0315	12.60	15.70	MONO
16	COMPENS	77.32	0.0309	0.0345	13.71	18.00	MONO

ABC: Area Bajo la Curva

K_{el} : Constante de eliminación para un modelo monocompartmental

Beta: Constante híbrida de eliminación para un modelo bicompartmental

AIC₁: Criterio de Akaike para un ajuste monocompartmental

AIC₂: Criterio de Akaike para un ajuste bicompartmental

MODELO: MONO=monocompartmental; BI=bicompartmental

Tabla IV.17.- -SIGUE-

Paciente Nº	Cirrosis grado	ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	AIC ₁	AIC ₂	MODELO
17	COMPENS	294.55	0.023	0.021	12.57	23.94	MONO
18	COMPENS	130.94	0.0339	--	13.12	--	MONO
19	DESCOMP	355.69	0.0227	0.0197	10.36	11.49	MONO
20	DESCOMP	546.20	0.0314	0.0093	5.41	-3.42	BI
21	DESCOMP	1039.89	0.0135	0.012	20.89	24.51	MONO
22	DESCOMP	198.08	0.0194	0.0183	7.26	11.89	MONO
23	COMPENS	752.44	0.0199	0.0069	8.83	4.84	BI
24	DESCOMP	496.13	0.013	0.013	-16.61	-12.61	MONO
25	COMPENS	170.64	0.0473	0.0432	8.16	9.73	MONO
26	DESCOMP	1019.74	0.0052	0.0054	21.25	24.20	MONO
27	COMPENS	263.07	0.0245	0.050	11.20	15.20	MONO
28	COMPENS	147.27	0.063	0.059	14.69	16.73	MONO
29	DESCOMP	551.05	0.0168	0.0156	1.74	-9.75	BI
30	DESCOMP	300.61	0.0196	0.0194	2.81	6.64	MONO
31	COMPENS	277.82	0.0135	0.050	-0.49	3.51	MONO
32	COMPENS	84.25	0.0825	0.0802	16.87	15.73	BI

Tabla IV.18.- Parámetros farmacocinéticos (V, Cl y $t_{1/2}$) obtenidos en pacientes cirróticos (saliva)

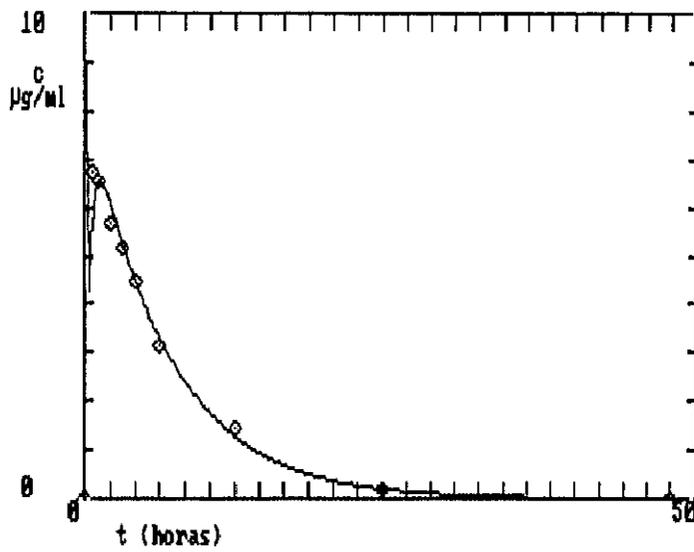
Paciente Nº	Cirrosis grado	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	$t_{1/2}$ (h)
1	DESCOMP	29.05	0.35	2.365	0.036	8.52
2	COMPENS	43.45	0.62	0.378	0.007	79.67
3	DESCOMP	36.75	0.75	1.132	0.023	22.50
4	DESCOMP	29.38	0.59	0.235	0.005	86.64
5	COMPENS	41.84	0.63	1.180	0.021	24.58
7	DESCOMP	36.05	0.68	0.155	0.004	161.20
8	COMPENS	23.90	0.35	2.144	0.036	7.73
9	COMPENS	42.60	0.69	1.423	0.024	20.75
10	COMPENS	45.98	0.67	2.506	0.041	12.72
11	DESCOMP	43.90	0.61	0.540	0.009	56.35
12	COMPENS	47.75	0.80	2.650	0.044	12.49
13	COMPENS	61.15	0.99	0.554	0.009	76.51
14	DESCOMP	83.03	1.31	0.812	0.013	70.87
15	COMPENS	118.52	1.19	1.920	0.027	42.79
16	COMPENS	117.18	1.46	3.621	0.049	22.43

V: Volumen aparente de distribución (expresado en l y en l/Kg)
 Cl: Aclaramiento (expresado en l/h y en ml/min/Kg)
 $t_{1/2}$: Vida media

Tabla IV.18.- -SIGUE-

Paciente Nº	Cirrosis grado	V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)	t _{1/2} (h)
17	COMPENS	41.35	0.64	0.951	0.015	30.14
18	COMPENS	62.99	0.66	2.138	0.038	20.42
19	DESCOMP	34.67	0.44	0.787	0.012	30.54
20	DESCOMP	55.16	0.72	0.513	0.011	74.53
21	DESCOMP	19.93	0.37	0.269	0.006	51.34
22	DESCOMP	72.89	1.04	1.414	0.021	35.73
23	COMPENS	53.91	0.65	0.372	0.007	100.46
24	DESCOMP	43.38	0.57	0.564	0.008	53.32
25	COMPENS	34.69	0.49	1.641	0.023	14.65
26	DESCOMP	52.88	0.73	0.275	0.005	133.30
27	COMPENS	43.43	0.51	1.064	0.020	28.29
28	COMPENS	30.17	0.59	1.901	0.037	11.00
29	DESCOMP	32.56	0.53	0.508	0.008	44.43
30	DESCOMP	47.50	0.58	0.931	0.014	35.36
31	COMPENS	74.67	1.11	1.008	0.015	51.34
32	COMPENS	41.43	0.69	3.323	0.055	8.64

Perfil Farmacocinético del sujeto n° 5 (modelo monocompartimental)



Perfil Farmacocinético del sujeto n° 5 (modelo biocompartimental)

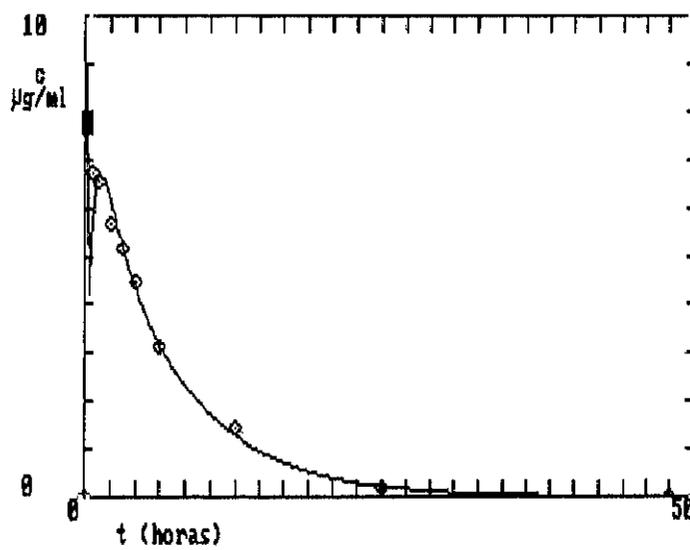
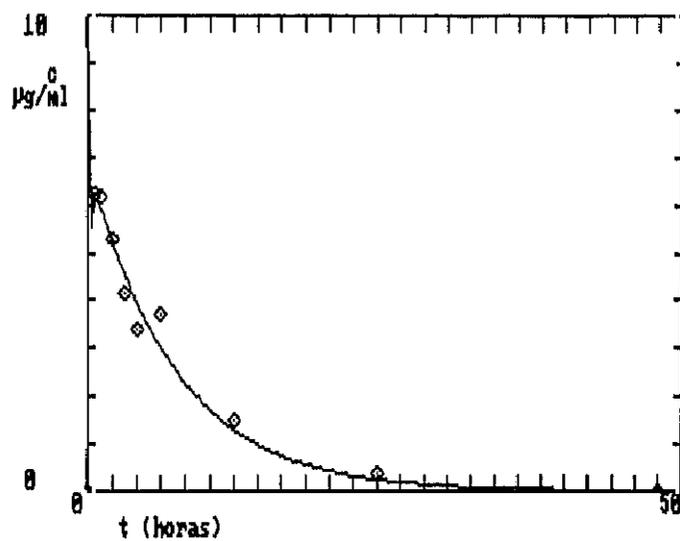


Figura IV.7.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SUERO DE UN SUJETO SANO

Perfil Farmacocinético del sujeto n° 5 (modelo monocompartimental)



Perfil Farmacocinético del sujeto n° 5 (modelo bicompartimental)

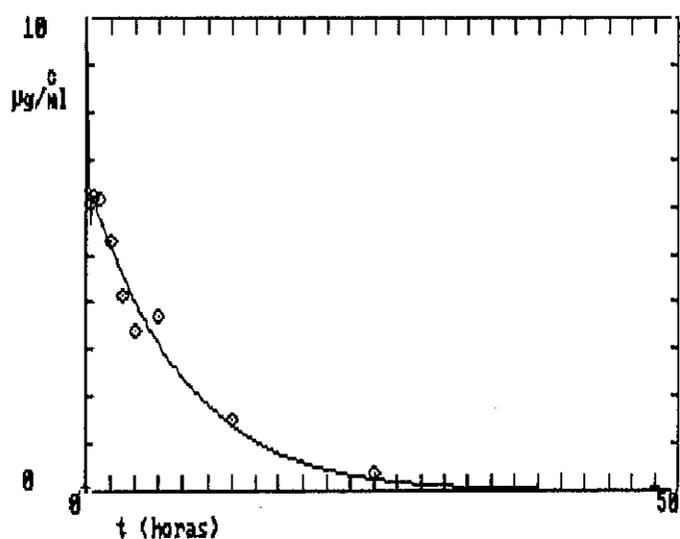
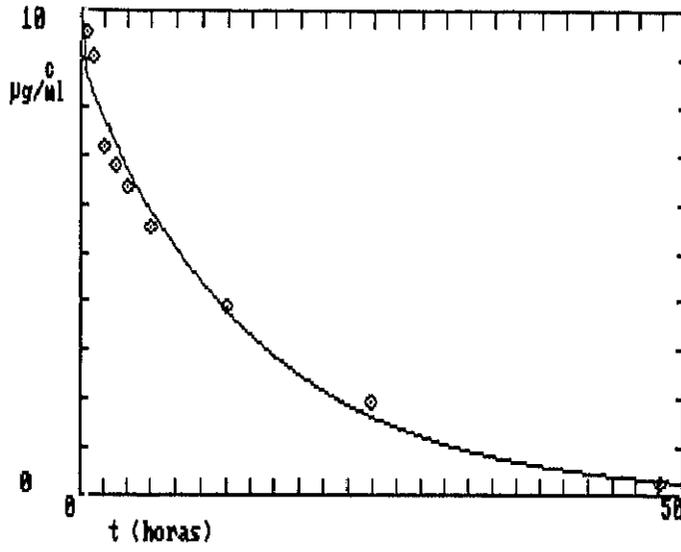


Figura IV.8.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SALIVA DE UN SUJETO SANO

Perfil farmacocinético del paciente n°25 (modelo monocompartimental)



Perfil Farmacocinético del paciente n°25 (modelo bicompartimental)

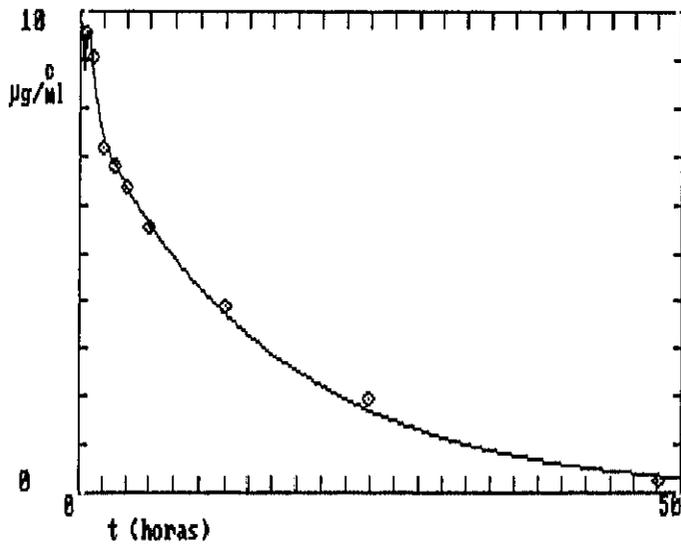
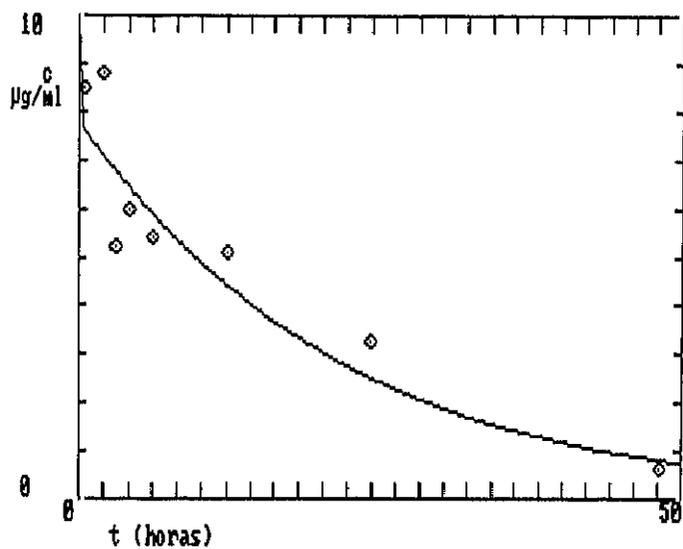


Figura IV.9.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SUERO DE UN PACIENTE CIRROTICO COMPENSADO

Perfil Farmacocinético del paciente n°25 (modelo monocompartimental)



Perfil Farmacocinético del paciente n°25 (modelo bicompartimental)

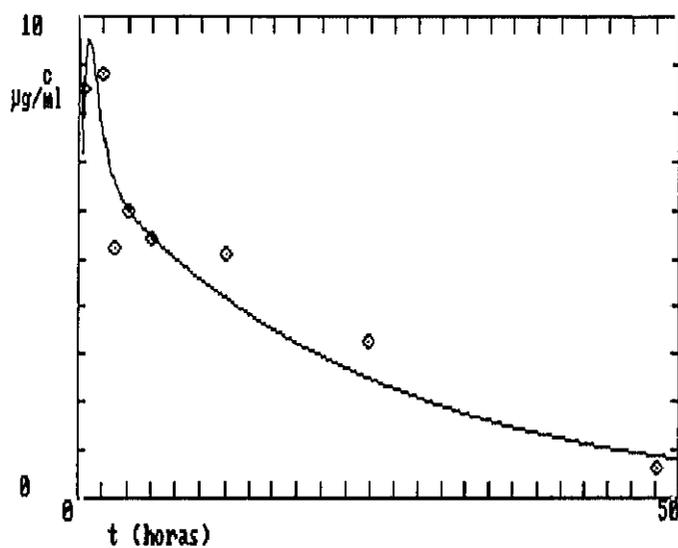
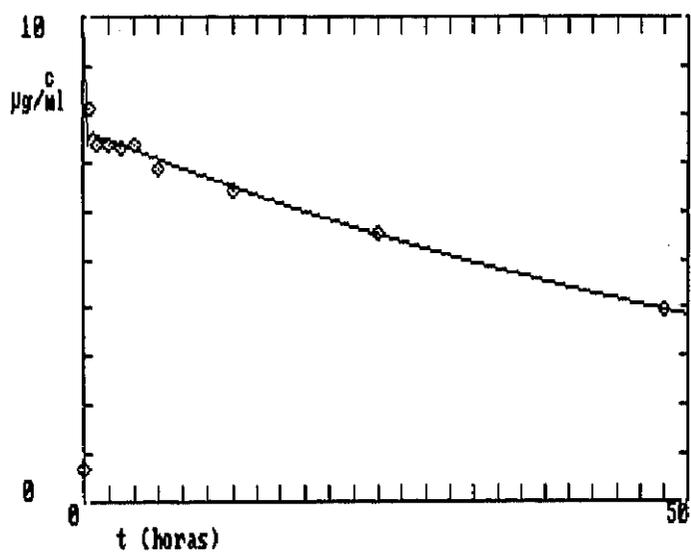


Figura IV.10.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SALIVA DE UN PACIENTE CIRROTICO COMPENSADO

Perfil Farmacocinético del paciente n°24 (modelo monocompartimental)



Perfil farmacocinético del paciente n°24 (modelo bicompartimental)

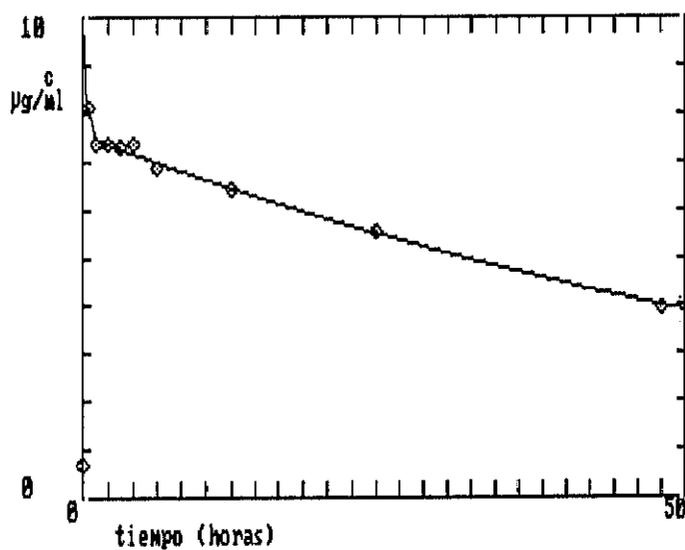
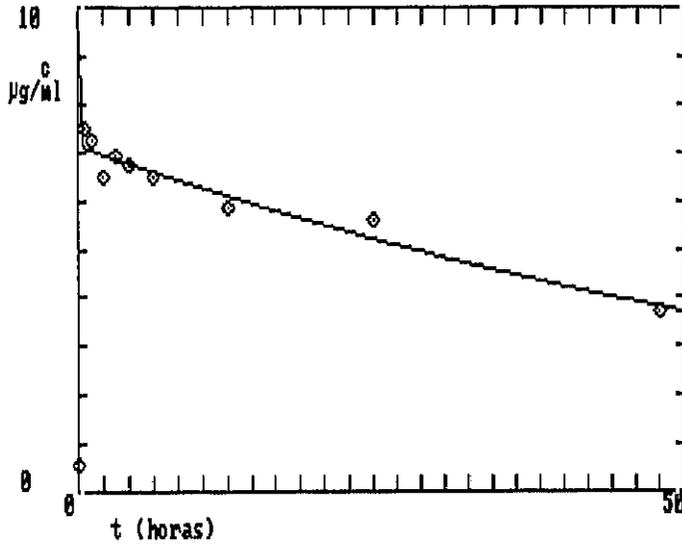


Figura IV.11.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SUERO DE UN PACIENTE CIRROTICO DESCOMPENSADO

Perfil Farmacocinético del paciente n° 24 (modelo monocompartimental)



Perfil Farmacocinético del paciente n°24 (modelo bicompartimental)

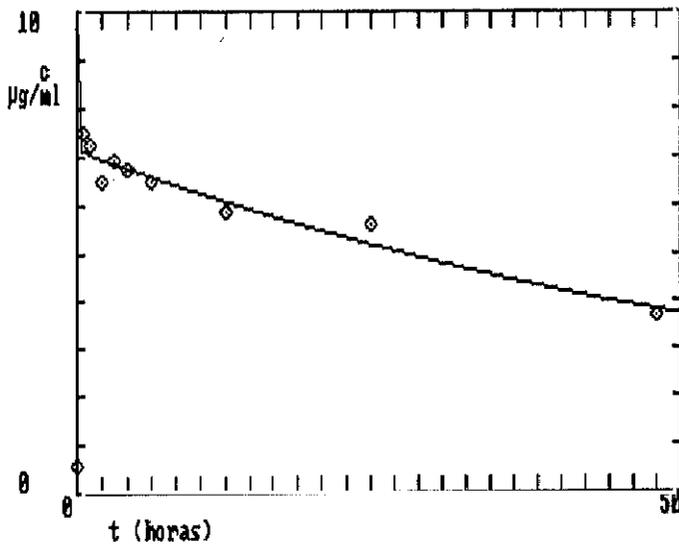


Figura IV.12.- PERFILES FARMACOCINETICOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS MUESTRAS DE SALIVA DE UN PACIENTE CIRROTICO DESCOMPENSADO

Tabla IV.19.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , Beta y $t_{1/2}$) obtenidos en los distintos grupos estudiados (suero)

		ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	$t_{1/2}$ (h)
SANOS (n=14)	media	57.79	0.1784	0.2009	4.56
	σ	27.28	0.0908	0.1075	1.80
CIRROTICOS (n=31)	media	470.64	0.0336	0.0298	48.30
	σ	389.17	0.0300	0.0283	41.40
COMPENSADOS (n=17)	media	242.79	0.0495	0.0419	22.04
	σ	146.17	0.0319	0.0302	13.78
DESCOMPENSADOS (n=14)	media	747.30	0.0142	0.0105	80.20
	σ	415.80	0.0095	0.0048	41.53

Tabla IV.20.- Parámetros farmacocinéticos (V y Cl) obtenidos en los distintos grupos estudiados (suero)

		V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)
SANOS (n=14)	media	33.96	0.54	6.43	1.76
	σ	8.91	0.09	3.96	1.01
CIRROTICOS (n=31)	media	41.24	0.60	1.10	0.30
	σ	13.75	0.19	0.83	0.22
COMPENSADOS (n=17)	media	36.83	0.52	1.57	0.43
	σ	9.42	0.12	0.81	0.22
DESCOMPENSADOS (n=14)	media	46.60	0.70	0.52	0.15
	σ	16.45	0.22	0.32	0.09

Tabla IV.21.- Parámetros farmacocinéticos (ABC, K_{el} , Beta y $t_{1/2}$) obtenidos en los distintos grupos estudiados (saliva)

		ABC (mg/l)h	K_{el} (h ⁻¹)	Beta (h ⁻¹)	$t_{1/2}$ (h)
SANOS (n=14)	media	62.12	0.1995	0.1951	5.45
	σ	25.17	0.175	0.179	3.40
CIRROTICOS (n=31)	media	422.83	0.0306	0.0302	46.11
	σ	394.93	0.023	0.024	37.34
COMPENSADOS (n=17)	media	257.13	0.0383	0.0402	33.21
	σ	211.54	0.023	0.024	27.91
DESCOMPENSADOS (n=14)	media	624.05	0.0212	0.0182	61.76
	σ	474.70	0.019	0.019	42.16

Tabla IV.22.- Parámetros farmacocinéticos (V y Cl) obtenidos en los distintos grupos estudiados (saliva)

		V (l)	V (l/Kg)	Cl (l/h)	Cl (ml/min/Kg)
SANOS (n=14)	media	33.84	0.54	5.73	1.64
	σ	10.43	0.15	3.62	1.06
CIRROTICOS (n=31)	media	49.75	0.71	1.27	0.35
	σ	23.25	0.27	0.94	0.24
COMPENSADOS (n=17)	media	54.41	0.75	1.69	0.46
	σ	26.79	0.28	0.97	0.25
DESCOMPENSADOS (n=14)	media	44.08	0.66	0.75	0.21
	σ	17.37	0.25	0.59	0.15

IV.4 INFLUENCIA DE VARIOS FACTORES SOBRE EL AJUSTE DE LOS VALORES EXPERIMENTALES A UN MODELO FARMACOCINÉTICO DETERMINADO

El hecho de que unos individuos presentaban una farmacocinética monocompartimental, mientras otros presentaban un mejor ajuste bicompartimental, nos llevó a estudiar la posible relación de varios factores (cirrosis, sobrepeso, ascitis y tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ($t_{máx}$) sobre estos distintos comportamientos: mono y bicompartimental.

La influencia de la cirrosis hepática, sobrepeso o ascitis se estudió mediante la prueba exacta de Fisher. El valor del $t_{máx}$ en los individuos mono y bicompartimentales se comparó mediante la prueba de la t de Student para muestras independientes.

En la tabla IV.23-(A) se presenta el número de individuos que presentan una farmacocinética mono o bicompartimental, en el grupo de sujetos sanos y en el de pacientes cirróticos. No hemos encontrado diferencias significativas. El estudio de la influencia del sobrepeso (peso total superior al 10% del peso ideal) se muestran en la tabla IV.23-(B). Como se puede apreciar, tampoco existen diferencias significativas. Con objeto de tener únicamente en cuenta el sobrepeso de grasa, en los individuos con ascitis masiva, hemos considerado que tenían sobrepeso únicamente los pacientes que presentaban un incremento superior al 20% del peso ideal. Tampoco se han encontrado una relación significativa, dentro del grupo de cirróticos, por el hecho de presentar o no ascitis. Los resultados aparecen en la tabla IV.23-(C). Por último, hemos estudiado si el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima podría tener una influencia en el modelo farmacocinético. La media de la $t_{máx}$ de los individuos bicompartimentales (75.1 minutos) es inferior a la de los individuos monocompartimentales (104.2 minutos), aunque las diferencias no alcanzan significación estadística (Tabla IV.23-D).

Los valores de esta tabla (apartados A, B y C) se expresan en frecuencias absolutas. El recuadro D de esta tabla representa el número de individuos, media de la $t_{máx}$ y desviación típica del grupo de mono y de bicompartimentales, el valor de la t de Student (para muestras independientes) así como el nivel de significación.

Tabla IV.23.- Influencia de la cirrosis, sobrepeso, ascitis y $t_{m\acute{a}x}$ en el modelo farmacocinético seleccionado

A) Cirrosis

	MONOCOMPARTIMENTAL	BICOMPARTIMENTAL
SANOS	10	4
CIRROTICOS	21	10

No Significativo

B) Sobrepeso

	MONOCOMPARTIMENTAL	BICOMPARTIMENTAL
SOBREPESO = NO	20	8
SOBREPESO = SI	11	6

No significativo

C) Ascitis

	MONOCOMPARTIMENTAL	BICOMPARTIMENTAL
ASCITIS = NO	9	4
ASCITIS = SI	12	6

No significativo

D) $t_{m\acute{a}x}$

MONOCOMPARTIMENTAL			BICOMPARTIMENTAL			t	Nivel Signif.
n	$t_{m\acute{a}x}$ (min)	σ	n	$t_{m\acute{a}x}$ (min)	σ		
31	104.2	130.7	14	75.1	53.3	1.06	N.S.

IV.5 INFLUENCIA DEL CONSUMO DE TABACO, CAFÉ Y ALCOHOL SOBRE EL ACLARAMIENTO Y LA VIDA MEDIA DE LA CAFEÍNA

Para el estudio de la influencia del factor tabaco, café y alcohol sobre los parámetros farmacocinéticos (aclaramiento y vida media), se hizo una comparación de medias mediante la prueba de la t de Student para muestras independientes. Cuando las varianzas de los grupos comparados no resultaron homogéneas se realizó la corrección de Welch. Dicha comparación se realiza en todos los grupos investigados. Los resultados son los que se muestran en las tablas IV.24 a IV.26.

Se incluyeron en el grupo de fumadores (Tabaco = Sí) aquellos individuos que fumaban al menos 1 cigarrillo diario. En la tabla IV.24 se puede observar que tanto en sanos como en cirróticos, el aclaramiento es superior y la vida media inferior en los fumadores, aunque las diferencias no alcanzan significación.

Para el estudio de la influencia del café, se incluyeron en el grupo "Café = Sí" aquellos individuos que tomaban una taza o más de café al día. En la tabla IV.25 se observa que el consumo de café influye en el mismo sentido que el de tabaco, aunque estas diferencias tampoco son significativas.

La tabla IV.26 informa sobre el efecto del consumo de alcohol. Los individuos que consumían 25 g o más de etanol al día se incluyeron en el grupo denominado "Alcohol = Sí". Se observa una aceleración de la eliminación de cafeína en los sujetos sanos, pero no así en el grupo de cirróticos.

Tabla IV.24.- Efecto del consumo de tabaco

GRUPO (n)		TABACO = SI			TABACO = NO			t	Nivel Signif.
		n	media	σ	n	media	σ		
SANOS (14)	CI		6.94	4.11		5.76	4.02	0.54	N.S.
	$t_{1/2}$	8	4.44	1.77	6	4.72	1.99	-0.28	N.S.
CIRROTICOS (31)	CI		1.37	0.94		0.95	0.75	1.37	N.S.
	$t_{1/2}$	11	33.76	23.97	20	56.31	47.06	-1.77	N.S.
COMPENSADOS (17)	CI		1.74	0.99		1.46	0.70	0.68	N.S.
	$t_{1/2}$	7	21.40	15.89	10	22.49	13.00	-0.15	N.S.
DESCOMPENSADOS (14)	CI		0.72	0.26		0.44	0.32	1.55	N.S.
	$t_{1/2}$	4	55.38	20.76	10	90.12	44.32	-1.48	N.S.

Tabla IV.25.- Efecto del consumo de café

GRUPO (n)		CAFE = SI			CAFE = NO			t	Nivel Signif.
		n	media	σ	n	media	σ		
SANOS (14)	CI		6.61	3.75		5.98	5.04	0.26	N.S.
	$t_{1/2}$	10	4.41	1.68	4	4.94	2.30	-0.49	N.S.
CIRROTICOS (31)	CI		1.36	0.93		0.88	0.69	1.64	N.S.
	$t_{1/2}$	14	35.01	35.85	17	59.25	43.45	-1.67	N.S.
COMPENSADOS (17)	CI		1.61	0.89		1.52	0.73	0.20	N.S.
	$t_{1/2}$	11	21.47	12.99	6	23.09	16.38	-0.22	N.S.
DESCOMPENSADOS (14)	CI		0.45	0.26		0.53	0.35	-0.37	N.S.
	$t_{1/2}$	3	84.67	52.94	11	78.98	40.91	0.20	N.S.

Tabla IV.26.- Efecto del consumo de alcohol

GRUPO (n)		ALCOHOL = SI			ALCOHOL = NO			t	Nivel Signi
		n	media	σ	n	media	σ		
SANOS (14)	CI		6.89	4.57		5.82	3.28	0.49	N.S.
	t _{1/2}	8	4.48	2.09	6	4.67	1.50	-0.19	N.S.
CIRROTICOS (31)	CI		0.76	0.58		1.26	0.89	-1.62	N.S.
	t _{1/2}	10	54.66	40.40	21	45.28	42.51	0.58	N.S.
COMPENSADOS (17)	CI		1.12	0.63		1.76	0.83	-1.54	N.S.
	t _{1/2}	5	26.72	15.83	12	20.09	13.08	0.90	N.S.
DESCOMPENS. (14)	CI		0.39	0.20		0.59	0.37	-1.09	N.S.
	t _{1/2}	5	82.60	38.35	9	78.86	45.40	0.15	N.S.

IV.6 LA SALIVA PARA EL CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE LA CAFEÍNA EN LA CIRROSIS

Con objeto de comprobar la utilidad de la saliva para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos, comprobamos la relación existente entre los parámetros procedentes del suero con los calculados a partir de las muestras de saliva.

En la tabla IV.27 y figura IV.13 se representan los datos de las regresiones entre los parámetros farmacocinéticos séricos y salivales, así como las ecuaciones estimativas del aclaramiento, vida media y volumen aparente de distribución de suero a partir de los calculados usando las muestras de saliva, en pacientes cirróticos. Se han hallado el coeficiente de correlación de Pearson, el valor de la F de Snedecor, así como el nivel de significación de las regresiones encontradas. Dicha regresión resulta significativa para el aclaramiento y para la vida media ($p < 0.001$) pero no para el volumen de distribución. Previamente se comprobó que no existían diferencias significativas entre los parámetros séricos y salivales, mediante la prueba de la t de Student para muestras pareadas.

TABLA IV.27.- Regresión lineal entre parámetros séricos y salivales

	<u>Ordenada (EE)</u>	<u>Pendiente (EE)</u>	<u>r</u>	<u>F</u>	<u>Nivel Significación</u>
Cl	0.134 (0.13)	0.760 (0.08)	0.859	81.94	$p < 0.001$
$t_{1/2}$	14.98 (9.20)	0.723 (0.16)	0.652	21.42	$p < 0.001$
V	0.597 (0.10)	0.005 (0.13)	0.007	0.002	No significativo

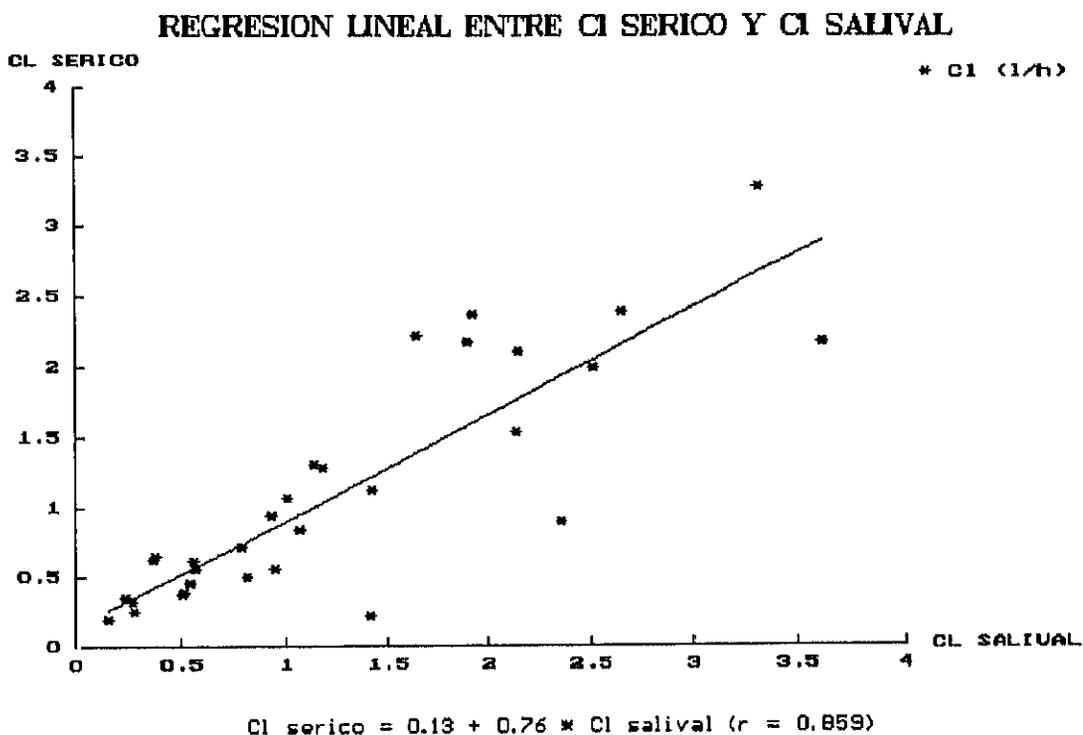
EE: Error estándar

r: Coeficiente de correlación de Pearson

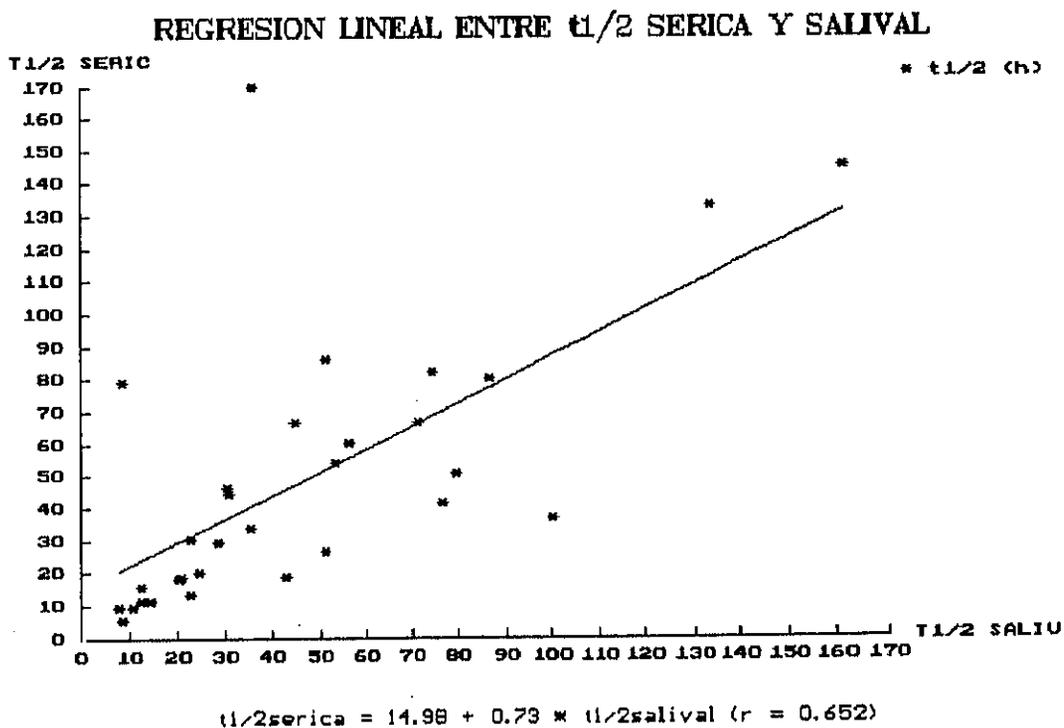
F: F de Snedecor

Figura IV.13- ESTIMACIÓN DE PARAMETROS FARMACOCINÉTICOS SÉRICOS A PARTIR DE DATOS SALIVALES (GRUPO DE PACIENTES CIRRÓTICOS)

A) Aclaramiento:



B) Vida Media:



IV.7 ESTIMACIÓN DEL ACLARAMIENTO Y VIDA MEDIA A PARTIR DE DOS MUESTRAS DE SUERO O DE SALIVA

En las tablas IV.28 a IV.31 se informa sobre los datos correspondientes a las correlaciones entre los parámetros farmacocinéticos hallados a partir de dos únicas muestras (de suero o de saliva) con los parámetros farmacocinéticos hallados a partir de las diez muestras experimentales (de suero o de saliva). Las tablas referidas representan los tiempos de muestreo seleccionados (que son distintos según el grupo objeto de estudio), el valor medio encontrado para cada grupo -por el método de dos puntos y por el método de diez- con su desviación típica, así como el coeficiente de correlación de Pearson, la F de Snedecor y el nivel de significación para cada correlación. En sombreado aparecen las relaciones seleccionadas que se representan en las gráficas IV.14 y IV.15, que ilustran las regresiones lineales de dichas relaciones. En las tablas IV.28 a IV.31 se puede observar como los coeficientes de correlación más elevados y con un nivel de significación mayor corresponden a los tiempos de muestreo de 3 y 12 o 24 horas para el grupo de sanos, y de 3 o 6 y 48 horas para el grupo de pacientes cirróticos. Los coeficientes de correlación son superiores, en general, para la estimación del aclaramiento, a partir de dos únicas muestras, que para la vida media. De igual modo, los coeficientes de correlación son superiores en las estimaciones a partir de dos muestras de suero que a partir de dos muestras de saliva. Algunos pacientes no se han podido incluir para establecer estas regresiones, al no disponerse de alguna de las muestras de suero o saliva correspondientes a los tiempos objeto del estudio.

Mediante la prueba de la t de Student para muestras pareadas se estudió la comparación entre los parámetros farmacocinéticos hallados por el método de 10 puntos con los hallados por el método de dos, no habiéndose encontrado diferencias significativas en ningún caso de los seleccionados.

Tabla IV.28.- Estimación del aclaramiento sérico a partir de dos únicas muestras de suero

CONDICION (Cl, σ) 10 muestras	tiempos de muestreo (h)	Cl(l/h), σ 2 muestras	r	F	Nivel de significación
SANOS (6.43, 3.96)	3, 12	5.08, 2.68	0.926	72.41	p < 0.001
	3, 24	3.87, 1.81	0.990	395.29	p < 0.001
	6, 12	4.78, 2.27	0.875	39.19	p < 0.001
	6, 24	3.72, 1.33	0.948	70.62	p < 0.001
CIRROTICOS (1.10, 0.83)	3, 24	1.16, 0.79	0.955	207.08	p < 0.001
	3, 48	1.17, 0.86	0.984	587.50	p < 0.001
	6, 24	1.04, 0.82	0.954	251.57	p < 0.001
	6, 48	1.10, 0.81	0.984	704.03	p < 0.001
COMPENSADOS (1.57, 0.81)	3, 24	1.46, 0.82	0.990	539.53	p < 0.001
	3, 48	1.51, 0.90	0.985	353.19	p < 0.001
	6, 24	1.42, 0.84	0.977	273.08	p < 0.001
	6, 48	1.48, 0.80	0.982	342.50	p < 0.001
DESCOMPENSADOS (0.52, 0.32)	3, 24	0.72, 0.52	0.766	9.93	p < 0.05
	3, 48	0.61, 0.37	0.943	47.90	p < 0.001
	6, 24	0.56, 0.52	0.824	21.07	p < 0.001
	6, 48	0.52, 0.36	0.959	91.96	p < 0.001

Tabla IV.29.- Estimación de la vida media sérica a partir de dos únicas muestras de suero

CONDICION (CI, σ) 10 muestras	tiempos de muestreo (h)	CI(l/h), σ 2 muestras	r	F	Nivel de significación
SANOS (5.73, 3.62)	3, 12	3.77, 1.64	0.916	46.88	p < 0.001
	3, 24	3.94, 1.10	0.827	15.21	p < 0.001
	6, 12	3.86, 1.81	0.944	73.73	p < 0.001
	6, 24	3.65, 0.94	0.870	21.86	p < 0.01
CIRROTICOS (1.27, 0.94)	3, 24	1.42, 0.95	0.882	73.84	p < 0.001
	3, 48	1.68, 1.11	0.955	177.95	p < 0.001
	6, 24	1.45, 1.10	0.905	99.97	p < 0.001
	6, 48	1.50, 1.14	0.972	348.21	p < 0.001
COMPENSADOS (1.69, 0.97)	3, 24	1.75, 0.97	0.887	40.65	p < 0.001
	3, 48	2.09, 1.08	0.923	57.56	p < 0.001
	6, 24	1.87, 1.08	0.951	105.32	p < 0.001
	6, 48	1.99, 1.05	0.979	230.83	p < 0.001
DESCOMPENSADOS (0.75, 0.59)	3, 24	0.99, 0.76	0.810	15.30	p < 0.01
	3, 48	0.99, 0.82	0.997	803.66	p < 0.001
	6, 24	0.96, 0.95	0.799	15.85	p < 0.01
	6, 48	0.91, 0.99	0.983	229.11	p < 0.001

Tabla IV.30.- Estimación del aclaramiento salival a partir de dos únicas muestras de saliva

CONDICION ($t_{1/2}$, σ) 10 muestras	tiempos de muestreo (h)	$t_{1/2}$ (h), σ 2 muestras	r	F	Nivel de significación
SANOS (4.56, 1.80)	3, 12	5.01, 1.77	0.957	129.97	p < 0.001
	3, 24	5.85, 0.94	0.782	12.59	p < 0.01
	6, 12	5.03, 1.93	0.895	48.15	p < 0.001
	6, 24	5.85, 1.01	0.661	6.23	p < 0.05
CIRROTICOS (48.30, 41.40)	3, 24	37.58, 27.44	0.888	74.93	p < 0.001
	3, 48	38.03, 31.28	0.942	151.50	p < 0.001
	6, 24	79.99, 136.44	0.383	4.30	p < 0.05
	6, 48	46.99, 42.67	0.939	172.41	p < 0.001
COMPENSADOS (22.04, 13.78)	3, 24	24.41, 17.22	0.931	71.28	p < 0.001
	3, 48	22.77, 13.32	0.986	388.89	p < 0.001
	6, 24	67.83, 173.73	0.598	7.23	p < 0.05
	6, 48	24.47, 18.68	0.937	93.20	p < 0.001
DESCOMPENSADOS (80.20, 41.53)	3, 24	56.62, 29.03	0.813	13.62	p < 0.01
	3, 48	95.21, 71.67	0.764	13.99	p < 0.01
	6, 24	62.85, 36.81	0.882	21.07	p < 0.01
	6, 48	80.78, 46.90	0.886	29.18	p < 0.001

Tabla IV.31.- Estimación de la vida media salival a partir de dos únicas muestras de saliva

CONDICION ($t_{1/2}$, σ) 10 muestras	tiempos de muestreo (h)	$t_{1/2}$ (h), σ 2 muestras	r	F	Nivel de significación
SANOS (5.45, 3.40)	3, 12	8.96, 6.37	0.760	12.39	p < 0.01
	3, 24	7.05, 3.11	0.983	199.35	p < 0.001
	6, 12	8.01, 4.59	0.904	40.38	p < 0.001
	6, 24	6.84, 3.18	0.959	79.53	p < 0.001
CIRROTICOS (46.11, 37.34)	3, 24	41.98, 46.07	0.343	2.798	N.S.
	3, 48	31.45, 24.51	0.918	91.30	p < 0.001
	6, 24	39.54, 32.63	0.479	6.54	p < 0.05
	6, 48	43.15, 41.02	0.774	29.91	p < 0.001
COMPENSADOS (33.21, 27.91)	3, 24	40.79, 59.67	0.529	4.28	N.S.
	3, 48	20.40, 11.44	0.755	13.26	p < 0.01
	6, 24	27.55, 29.00	0.632	7.33	p < 0.05
	6, 48	30.61, 45.73	0.893	39.42	p < 0.001
DESCOMPENSADOS (61.76, 42.16)	3, 24	43.52, 20.90	0.181	0.27	N.S.
	3, 48	50.39, 29.98	0.956	53.42	p < 0.001
	6, 24	53.70, 32.13	0.211	0.42	N.S.
	6, 48	58.19, 30.14	0.898	33.32	p < 0.001

Figura IV.14.- VALORES INDIVIDUALES DEL Cl DE CAFEÍNA ESTIMADOS A PARTIR DEL MÉTODO SIMPLIFICADO DE DOS PUNTOS

A) Suero:

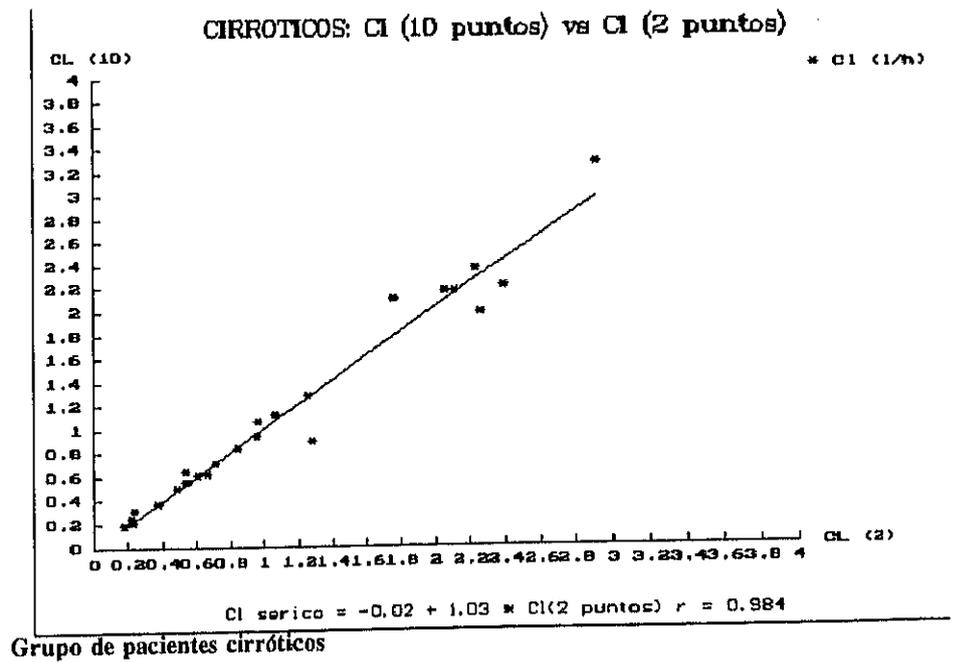
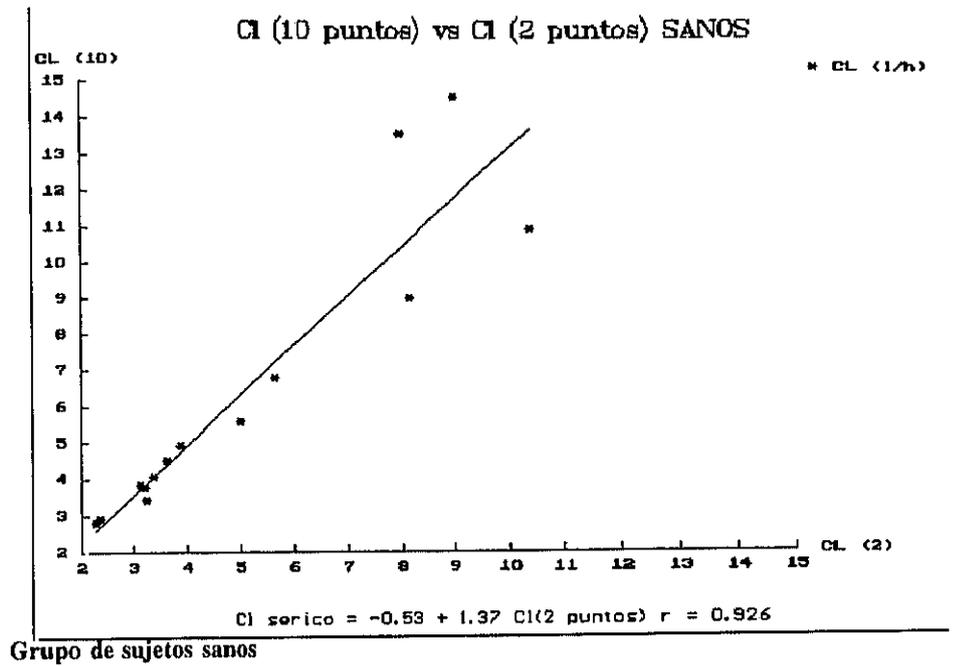


Figura IV.14.- SIGUE

B) Saliva:

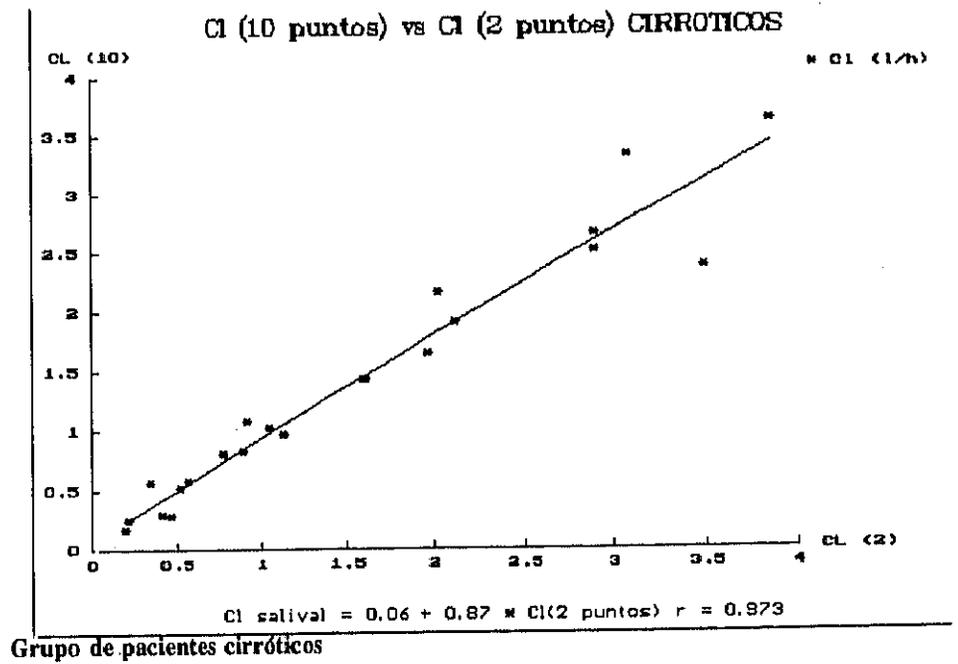
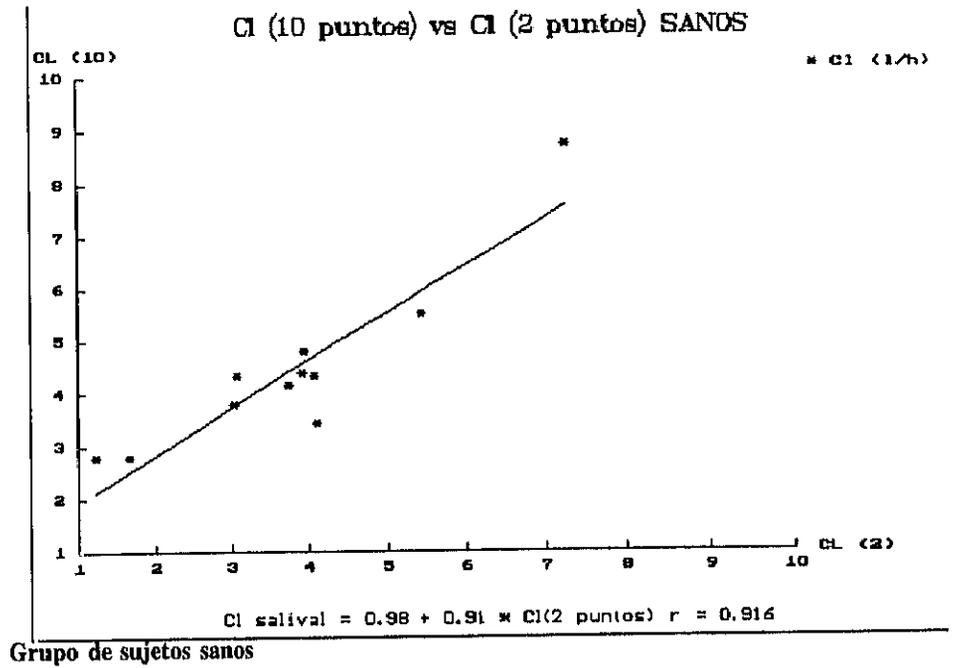
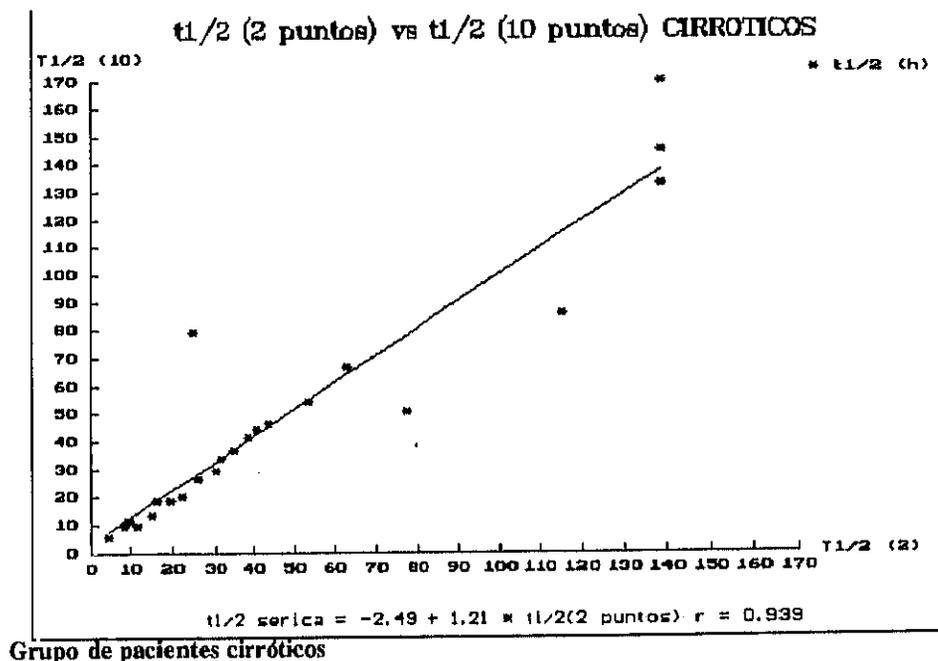
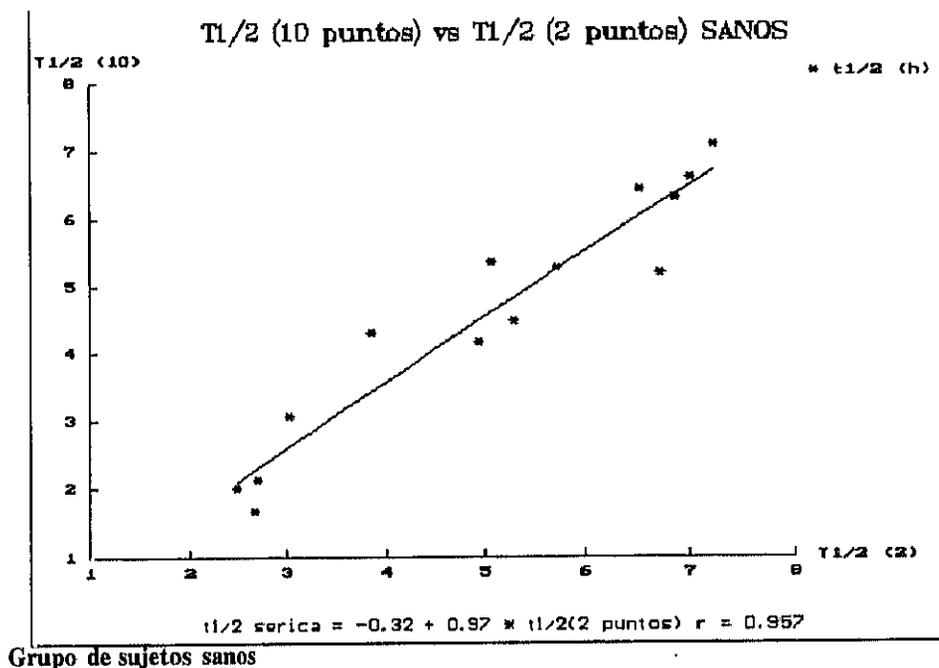


Figura IV.15.- ESTIMACIÓN DE LA VIDA MEDIA DE CAFEÍNA A PARTIR DEL MÉTODO SIMPLIFICADO DE DOS PUNTOS

A) Suero:



IV.8 LA CAFEÍNA COMO PRUEBA DE FUNCIÓN HEPÁTICA EN LA CIRROSIS

IV.8.1 COMPARACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE LOS DISTINTOS GRUPOS

En las tablas IV.32 y IV.34 se exponen las comparaciones entre los parámetros farmacocinéticos (Cl, $t_{1/2}$, V/peso) en los distintos grupos de población investigados: sanos, cirróticos compensados y cirróticos descompensados. Los parámetros farmacocinéticos usados para las comparaciones son los calculados a partir de los diez puntos experimentales. Dichas comparaciones se realizan mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (para un estudio conjunto), al no presentar los valores de estos parámetros sus varianzas homogéneas en los distintos grupos investigados. Para estudiar la comparación entre dos grupos se utiliza la prueba de Mann-Whitney (tablas IV.33 y IV.35):

SUERO: En la tabla IV.32 se informa sobre la comparación múltiple, que resulta significativa entre los grupos de población estudiados (para los tres parámetros farmacocinéticos hallados a partir de las muestras de suero (aclaramiento y vida media - $p < 0.001$ - y volumen aparente de distribución - $p < 0.01$ -). Cuando se investiga el aclaramiento y la vida media entre sanos y cirróticos compensados, así como entre cirróticos compensados y descompensados, se puede observar (tabla IV.33) que las diferencias son significativas ($p < 0.001$ en todos los casos). El volumen aparente de distribución (l/Kg) no presenta diferencias significativas entre sanos y cirróticos, aunque sí, dentro de estos, entre los compensados y los descompensados ($p < 0.01$).

SALIVA: De forma similar se realizan las comparaciones utilizando los parámetros farmacocinéticos derivados de las muestras de saliva. En la comparación múltiple se pueden observar (tabla IV.34) diferencias significativas para el aclaramiento y la vida media ($p < 0.001$), pero no así para el volumen de distribución. Al comparar el aclaramiento del grupo de sanos con el de cirróticos compensados, así como el de los cirróticos compensados frente al de cirróticos descompensados se observan diferencias significativas ($p < 0.001$) (Tabla IV.35).

Tabla IV.32.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las muestras de suero en los tres grupos de población estudiados

A) Aclaramientos:

ESTADISTICO H: 35.02

GRADOS DE LIBERTAD: 2

PROBABILIDAD: $2.48 * 10^{-8}$

Significativo ($p < 0.001$)

B) Vidas Medias:

ESTADISTICO H: 36.27

GRADOS DE LIBERTAD: 2

PROBABILIDAD: $1.33 * 10^{-8}$

Significativo ($p < 0.001$)

C) Volúmenes de distribución/peso:

ESTADISTICO H: 10.46

GRADOS DE LIBERTAD: 2

PROBABILIDAD: $5.23 * 10^{-3}$

Significativo ($p < 0.01$)

Tabla IV.33.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las muestras de suero

A) Aclaramientos:

sanos vs cirróticos compensados

DIAGNOSTICO	Cl (l/h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Sanos	6.43	341	2
Compensados	1.57	155	236

Probabilidad < 10^{-5}

cirróticos compensados vs cirróticos descompensados

DIAGNOSTICO	Cl (l/h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Compensados	1.57	369	22
Descompensados	0.52	127	116

Probabilidad: $6 * 10^{-5}$

B) Vidas Medias:

sanos vs cirróticos compensados:

DIAGNOSTICO	$t_{1/2}$ (h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Sanos	4.56	110.5	232.5
Compensados	22.04	385.5	5.5

Probabilidad < 10^{-5}

cirróticos compensados vs cirróticos descompensados

DIAGNOSTICO	$t_{1/2}$ (h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Compensados	22.04	163	228
Descompensados	80.20	333	10

Probabilidad: 10^{-5}

C) Volúmenes de distribución/peso:

sanos vs cirróticos

DIAGNOSTICO	V (l/Kg)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Sanos	0.54	286	253
Cirróticos	0.60	749	181

Probabilidad: 0.188

No Significativo

cirróticos compensados vs cirróticos descompensados

DIAGNOSTICO	V (l/Kg)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Compensados	0.52	198.5	192.5
Descompensados	0.70	297.5	45.5

Probabilidad: 0.0017

Tabla IV.34.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las muestras de saliva en los tres grupos de población estudiados

A) Aclaramientos:

ESTADISTICO H: 31.52
GRADOS DE LIBERTAD: 2
PROBABILIDAD: $1.43 * 10^{-7}$
Significativo (p < 0.001)

B) Vidas Medias:

ESTADISTICO H: 28.87
GRADOS DE LIBERTAD: 2
PROBABILIDAD: $5.38 * 10^{-7}$
Significativo (p < 0.001)

C) Volúmenes de distribución/peso:

ESTADISTICO H: 4.84
GRADOS DE LIBERTAD: 2
PROBABILIDAD: 0.09
No significativo

Tabla IV.35.- Comparación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las muestras de saliva

A) Aclaramientos:

sanos vs cirróticos compensados

DIAGNOSTICO	Cl (l/h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Sanos	5.73	338	5
Compensados	1.69	158	233

Probabilidad < 10^{-5}

cirróticos compensados vs cirróticos descompensados

DIAGNOSTICO	Cl (l/h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Compensados	1.69	347	44
Descompensados	0.75	149	194

Probabilidad: 0.00146

B) Vidas medias:

sanos vs cirróticos compensados

DIAGNOSTICO	$t_{1/2}$ (h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Sanos	5.45	112	231
Compensados	33.21	384	7

Probabilidad < 10^{-5}

cirróticos compensados vs cirróticos descompensados

DIAGNOSTICO	$t_{1/2}$ (h)	Σ RANGOS	ESTADISTICO U
Compensados	33.21	212.5	178.5
Descompensados	61.76	283.5	59.5

Probabilidad: 0.00909

IV.8.2 RELACIÓN ENTRE LOS DATOS ANALÍTICOS (BILIRRUBINA, ALBÚMINA Y TASA DE PROTROMBINA) Y LA PUNTUACIÓN DE CHILD CON EL ACLARAMIENTO Y VIDA MEDIA DE LA CAFEÍNA

En la tabla IV.36 se exponen los datos correspondientes a las correlaciones halladas entre los datos analíticos (correspondientes a la clasificación de Child-Pugh) y el aclaramiento y vida media de la cafeína (suero y saliva) en el grupo de pacientes cirróticos. Se informa sobre el coeficiente de correlación de Pearson y sobre el nivel de significación.

Se puede observar que la significación resultó superior con los parámetros farmacocinéticos procedentes del suero que con los de la saliva. Asimismo, los valores superiores del coeficiente de correlación se obtienen al relacionar los parámetros farmacocinéticos de la cafeína con la tasa de protrombina. A continuación se sitúa la albúmina sérica y, por último, la bilirrubina sérica.

A continuación se representan en la tabla IV.37 y en la figura IV.16 los valores de las regresiones lineales entre la puntuación de Child y los parámetros farmacocinéticos de eliminación de los pacientes cirróticos. Aunque las correlaciones son significativas en todos los casos, el nivel de significación y los coeficientes de correlación son superiores cuando las estimaciones se realizan a partir de los parámetros farmacocinéticos séricos, que cuando se realizan con los datos salivales.

Tabla IV.36.- Relación entre datos bioquímicos y parámetros farmacocinéticos (aclaramiento y vida media) de la cafeína

Fluido biológico	Parámetro farmacocinético	Prueba bioquímica	r	Nivel de Significación (p <)
SUERO	Cl	BILIRRUBINA	-0.453	p < 0.05
		ALBUMINA	0.652	p < 0.001
		PROTROMBINA	0.667	p < 0.001
	t _{1/2}	BILIRRUBINA	0.402	p < 0.05
		ALBUMINA	-0.662	p < 0.001
		PROTROMBINA	-0.720	p < 0.001
SALIVA	Cl	BILIRRUBINA	-0.389	p < 0.05
		ALBUMINA	0.546	p < 0.01
		PROTROMBINA	0.559	p < 0.01
	t _{1/2}	BILIRRUBINA	0.075	N.S.
		ALBUMINA	-0.492	p < 0.01
		PROTROMBINA	-0.372	p < 0.05

Tabla IV.37.- Regresión lineal entre la puntuación de Child-Pugh y los parámetros farmacocinéticos (aclaramiento y vida media) de la cafeína

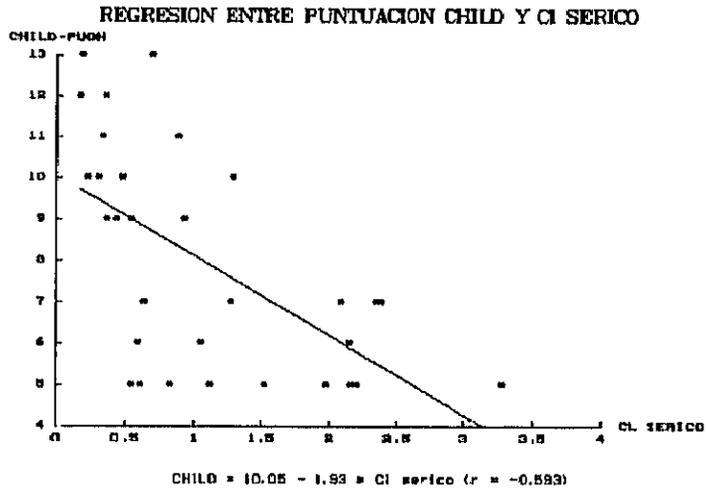
	Ordenada (EE)	Pendiente (EE)	r	F	Nivel Significación
Cl (suero)	10.05 (0.66)	-1.93 (0.49)	-0.593	15.72	p < 0.001
t _{1/2} (suero)	5.58 (0.50)	0.05 (0.01)	0.750	37.37	p < 0.001
Cl (saliva)	9.53 (0.75)	-1.26 (0.48)	-0.437	6.85	p < 0.05
t _{1/2} (saliva)	6.72 (0.73)	0.03 (0.01)	0.364	4.42	p < 0.05

EE: Error Estándar

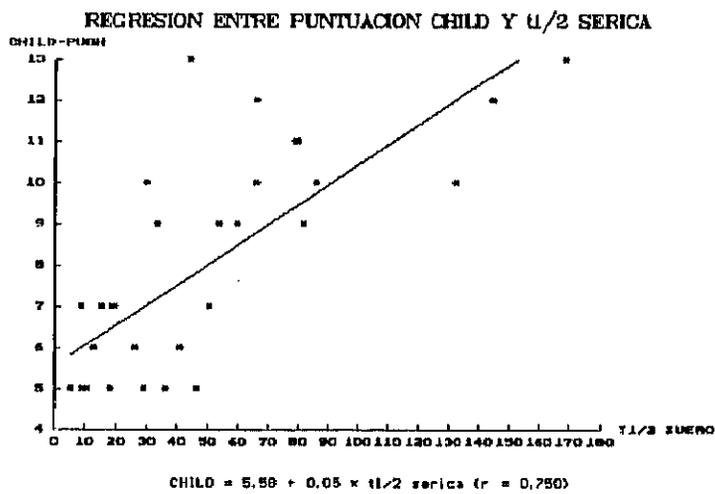
r: Coeficiente de correlación de Pearson

F: F de Snedecor

Figura IV.16.- REGRESION ENTRE LA PUNTUACION CHILD-PUGH Y LOS PARAMETROS FARMACOCINETICOS DE ELIMINACION (SUERO)



Aclaramiento



Vida Media

IV.8.3 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CAFEÍNA -HALLADAS EN LOS TIEMPOS 6, 12, 24 Y 48 HORAS- ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS

En la tabla IV.38 se representa la comparación existente entre el grupo de sujetos sanos y el de pacientes cirróticos compensados con relación a las concentraciones de cafeína presentes en el suero o la saliva en los tiempos 6, 12, 24 y 48 horas. En la tabla IV.39 se informa sobre la comparación entre los dos grupos de cirróticos -compensados y descompensados-. Para la elaboración de estas tablas se han calculado las concentraciones de cuyos valores no se disponía, realizando la interpolación o extrapolación pertinente con la ecuación y parámetros representativos de la cinética del sujeto o paciente en cuestión.

Se puede observar en los resultados cómo se obtienen diferencias significativas en todos los tiempos investigados cuando se comparan sanos con cirróticos compensados. Esto es válido tanto para las muestras de suero como de saliva.

Cuando la comparación se establece entre el grupo de cirróticos compensados y el de cirróticos descompensados, las diferencias alcanzan significación con las muestras obtenidas a las 24 horas, y aumenta en las obtenidas a las 48 horas. La significación es ligeramente superior en las comparaciones establecidas con las muestras de suero que con las de saliva.

Tabla IV.38.- Comparación entre las concentraciones presentes a distintos tiempos en el grupo de sujetos sanos y en el grupo de pacientes cirróticos compensados

Fluido biológico	tiempo de muestreo (h)	SANOS		COMPENSADOS		t	Nivel de significación
		cafeína (µg/ml)	σ	cafeína (µg/ml)	σ		
SUERO	6	4.29	1.86	6.94	2.04	3.75	p < 0.001
	12	1.87	1.12	5.49	2.23	5.86	p < 0.001
	24	0.44	0.37	3.77	2.38	5.69	p < 0.001
	48	0.02	0.03	1.85	1.71	4.41	p < 0.001
SALIVA	6	3.80	1.71	5.74	2.22	2.66	p < 0.05
	12	1.76	1.14	4.80	1.93	5.43	p < 0.001
	24	0.38	0.40	3.51	2.08	6.08	p < 0.001
	48	0.05	0.11	1.60	1.42	4.50	p < 0.001

Tabla IV.39.- Comparación entre las concentraciones presentes a distintos tiempos en el grupo de pacientes cirróticos compensados y en el de descompensados

Fluido biológico	tiempo de muestreo (h)	COMPENSADOS		DESCOMPENSADOS		t	Nivel de significación
		cafeína (µg/ml)	σ	cafeína (µg/ml)	σ		
SUERO	6	6.94	2.04	7.14	1.77	0.28	N.S.
	12	5.49	2.23	6.59	1.95	1.45	N.S.
	24	3.77	2.38	5.93	2.06	2.67	p < 0.05
	48	1.85	1.71	4.56	2.09	3.97	p < 0.001
SALIVA	6	5.74	2.22	6.98	1.81	1.62	N.S.
	12	4.80	1.93	6.19	2.22	1.86	N.S.
	24	3.51	2.08	5.26	1.55	2.60	p < 0.05
	48	1.60	1.42	3.69	1.79	3.64	p < 0.01

IV.8.4 RELACIÓN ENTRE LA PUNTUACIÓN CHILD Y LAS CONCENTRACIONES DE CAFEÍNA (24 Y 48 HORAS) EN PACIENTES CIRRÓTICOS. UTILIDAD DE LAS CONCENTRACIONES C-24 Y C-48 DE CAFEÍNA COMO PRUEBA DIAGNÓSTICA

En la tabla IV.40 y IV.41 se informa sobre las concentraciones séricas de cafeína alcanzadas a las 24 y 48 horas de la administración de esta sustancia, en sujetos sanos y en pacientes cirróticos, respectivamente.

En la tabla IV.42 se presentan los datos relativos a las correlaciones halladas entre la puntuación de Child y las concentraciones de cafeína correspondientes a los tiempos de muestreo de 24 y 48 horas. El coeficiente de correlación y la significación obtenida con las concentraciones correspondientes a 48 horas son superiores a los obtenidos con las muestras de 24 horas y, del mismo modo, las muestras séricas presentan una significación superior que las muestras de saliva.

En la tabla IV.43 se muestran los cálculos para hallar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la concentración sérica hallada a las 24 horas como una prueba diagnóstica para diferenciar sujetos sanos de pacientes con cirrosis hepática. Como punto de corte se fijó el valor de 1 $\mu\text{g/ml}$.

En la tabla IV.44 se muestra lo propio para la C-48, habiéndose establecido el punto de corte en 0.2 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados indican una sensibilidad de 96.77%, una especificidad del 100%, un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 93%, en ambos casos.

Tabla IV.40.- Concentraciones alcanzadas a las 24 y 48 horas de la administración de la cafeína en sujetos sanos

Sujeto nº	C-24 (µg/ml)	C-48 (µg/ml)
1	1.00	0.00
2	0.50	0.03
3	0.00	0.00
4	0.92	0.07
5	0.22	0.00
6	0.05	0.00
7	0.40	0.02
8	0.90	0.07
9	0.56	0.02
10	0.84	0.08
11	0.56	0.02
12	0.21	0.01
13	0.00	0.00
14	0.00	0.00

Tabla IV.41.- Concentraciones alcanzadas a las 24 y 48 horas de la administración de la cafeína en pacientes cirróticos

Paciente n ^o	C-24 ($\mu\text{g/ml}$)	C-48 ($\mu\text{g/ml}$)
1	2.27	1.59
2	4.99	3.53
3	2.92	1.55
4	6.31	5.05
5	3.38	1.57
7	7.51	6.50
8	1.46	0.53
9	4.50	2.07
10	2.26	0.29
11	6.60	4.00
12	1.51	0.50
13	6.31	3.87
14	4.80	3.91
15	2.25	0.70
16	2.01	0.68

Tabla IV.41.- SIGUE

Paciente n°	C-24 ($\mu\text{g/ml}$)	C-48 ($\mu\text{g/ml}$)
17	9.22	5.78
18	3.47	1.50
19	5.95	3.73
20	4.34	4.05
21	10.17	8.74
22	6.82	6.34
23	5.72	3.25
24	5.54	3.91
25	1.98	0.25
26	8.33	7.19
27	6.97	3.75
28	1.74	0.22
29	6.31	4.95
30	4.13	2.31
31	5.58	3.01
32	0.72	0.01

Tabla IV.42.- Regresión entre la puntuación de Child y las muestras C-24 Y C-48

Fluido biológico	t de muestreo (h)	r	F	Significación
SUERO	24	0.389	5.16	p < 0.05
	48	0.568	13.81	p < 0.001
SALIVA	24	0.408	5.79	p < 0.05
	48	0.512	10.30	p < 0.01

Tabla IV.43.- Sensibilidad y Especificidad de la C-24 sérica

	CIRROTICOS	SANOS	Total
C-24 > 1 µg/ml	30	0	30
C-24 ≤ 1 µg/ml	1	14	15
Total	31	14	45

Sensibilidad (%) = $30 * 100 / (30 + 1) = 96.77\%$

Especificidad (%) = $14 * 100 / (0 + 14) = 100\%$

Valor predictivo positivo (%) = $30 * 100 / 30 + 0 = 100\%$

Valor predictivo negativo (%) = $14 * 100 / (1 + 14) = 93\%$

Tabla IV.44.- Sensibilidad y Especificidad de la C-48 sérica

	CIRROTICOS	SANOS	Total
C-48 > 0.2 µg/ml	30	0	30
C-48 ≤ 0.2 µg/ml	1	14	15
Total	31	14	45

Sensibilidad (%) = $30 * 100 / (30 + 1) = 96.77\%$

Especificidad (%) = $14 * 100 / (0 + 14) = 100\%$

Valor predictivo positivo (%) = $30 * 100 / 30 + 0 = 100\%$

Valor predictivo negativo (%) = $14 * 100 / (1 + 14) = 93\%$

V) DISCUSIÓN

V.1 TÉCNICA ANALÍTICA

La técnica analítica de cromatografía líquida para cuantificación de cafeína en suero y saliva que hemos puesto a punto ofrece algunas ventajas respecto a las publicadas anteriormente y que se revisaron en el apartado II.3.5.3 del capítulo de Fundamentos.

-La fase móvil usada en nuestra técnica no lleva solución tampón, a diferencia de las publicadas hasta la fecha (Berlín, 1984), (Scott, 1984), (Abernethy, 1985), (Beach, 1986), (Lelo, 1986), (Alkaysi, 1988), (Carbó, 1989)... En nuestro método, se compone de agua, ácido acético, metanol y acetonitrilo. La ausencia de solución tampón supone un ahorro de tiempo en la preparación de la fase móvil, al no tener que manipular sales, ajustar pH, etc. Por otro lado, la ausencia de sales puede mejorar la eficacia de la bomba del cromatógrafo, alargando la vida de los pistones de dicha bomba.

-En nuestra técnica no se ha utilizado una extracción con disolventes orgánicos. Los autores citados, a excepción de Berlín (1984) y Alkaysi (1988), han utilizado una fase extractiva orgánica, seguida de evaporación a sequedad del disolvente orgánico y recomposición del extracto seco, lo que alarga enormemente esta fase preparativa previa a la inyección de la muestra en el cromatógrafo. Berlín (1984) y Alkaysi (1988) recurrieron a una precipitación de proteínas seguida de centrifugación, el primero con acetonitrilo y Alkaysi con sulfato de cinc. Cuando poníamos a punto nuestra técnica analítica, ensayamos con acetonitrilo, pero encontramos una deformación del pico correspondiente a la cafeína y al estándar interno que usábamos entonces (7-(β -hidroxipropil)-teofilina). Es posible que el pH de nuestra fase móvil (\approx 2.9), inferior al de Berlín (1984) que usó una solución tampón de acetato de pH = 4.0, facilite alguna reacción de la cafeína y el estándar interno en nuestras condiciones de trabajo. Esto nos llevó a investigar otros reactivos precipitantes, obteniendo con el metanol excelentes resultados, sin los problemas mencionados del acetonitrilo.

La precisión y coeficientes de extracción obtenidos (tablas IV.3 a IV.6) no hicieron necesaria la utilización de estándar interno para la cuantificación del proceso extractivo. Los trabajos consultados han empleado el estándar interno, lo que alarga los tiempos de preparación previa de la muestra. Además, si el estándar interno es más apolar que la cafeína,

se alarga el desarrollo del cromatograma. Por el contrario, si se recurre a un compuesto más polar que la cafeína, su tiempo de retención será menor, por lo que puede coincidir con el de otras sustancias presentes en el suero que tienen un tiempo de retención menor que el de la cafeína, lo que haría imposible la cuantificación de ésta.

En nuestras condiciones analíticas, el factor limitante de tiempo para la cuantificación de las muestras ha sido el tiempo de desarrollo de los cromatogramas (menos de cinco minutos) y no el procesado previo de las muestras, que suele ser el proceso más largo en cromatografía líquida.

El desarrollo del cromatograma en ese corto tiempo no ha presentado problemas de especificidad, tal como se mostró en la figura IV.5, donde se pueden apreciar los tiempos de retención de los tres principales metabolitos de la cafeína, significativamente menores que el de la cafeína (2.38 min. la teobromina, 2.86 min. la paraxantina y 2.95 min. la teofilina).

La especificidad, sensibilidad y exactitud de nuestro método es semejante al obtenido por los investigadores referenciados, pero se puede resaltar que la técnica analítica que hemos desarrollado presenta notables ventajas en cuanto a sencillez y tiempo, lo que puede resultar esencial cuando han de procesarse un elevado número de muestras.

V.2 MODELO FARMACOCINÉTICO DE LA CAFEÍNA

Algunos autores han señalado que la cafeína tiene una farmacocinética de eliminación no lineal o dosis-dependiente (Dan-Shia, 1983), (Cheng, 1990), aunque la mayoría de investigadores no han podido comprobar este comportamiento. Varios investigadores han encontrado que a las dosis habitualmente usadas, la cafeína presenta una farmacocinética lineal. Así, Newton (1981) administrando dosis crecientes a varios sujetos, hasta una cantidad de 750 mg de cafeína, no encontró disminuciones en el aclaramiento de esta sustancia a esas dosis tan elevadas, lo cual resulta significativo. Con diseños semejantes, Bonati (1982) - investigó con dosis de hasta 10 mg/Kg- y otros investigadores (Mays, 1982), (Bianchetti, 1988), han encontrado resultados similares.

Nuestro diseño experimental no ha permitido comprobar si existe una farmacocinética de eliminación de la cafeína no lineal, aunque al ser mayoría los autores que han comprobado el comportamiento lineal de la cafeína hasta dosis muy superiores a la empleada por nosotros, hemos optado por ajustar nuestros datos experimentales a una eliminación de tipo lineal según modelos de uno y de dos compartimentos.

Nuestros resultados indican que un treinta por ciento de casos no se comporta con la simplificación que supone asumir un modelo monocompartimental.

En el trabajo pionero de Desmond (1980) sobre la eliminación disminuida de la cafeína en la cirrosis hepática, los datos experimentales se ajustaron a una ecuación monoexponencial por regresión lineal de las transformaciones logarítmicas de las concentraciones plasmáticas frente al tiempo. Sin embargo, un detallado estudio de sus datos indican que el ajuste realizado a una línea recta podría haber sido mejor con una ecuación biexponencial. De acuerdo con este autor, diversos investigadores (Newton, 1981), (Bianchetti, 1988), (Holstege, 1989), asumen un modelo monocompartimental para el ajuste de sus puntos experimentales. A la vista de nuestros resultados, opinamos que este ajuste es más la consecuencia de una simplificación que una realidad.

Por otra parte, son varios los trabajos que prefieren referirse a la "*fase terminal de eliminación*" para el cálculo de la vida media. Por ejemplo, May (1982) calculó la vida media utilizando los datos de concentraciones séricas obtenidos entre las 2 y las 12 horas. Sin embargo, el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ($t_{máx}$) lo obtuvo en un intervalo que iba desde 15 a 50 minutos, por lo que da a entender que en ese período comprendido entre el $t_{máx}$ y las 2 horas existió un comportamiento distinto (fase de distribución) que a partir de las 2 horas. Asimismo, Scott (1988 y 1989) señaló que sus datos se ajustaron a una ecuación poliexponencial según un algoritmo de regresión no lineal mediante mínimos cuadrados ponderados utilizando el programa NONLIN, pero no se ofrecieron más detalles sobre el tipo de ecuación encontrada. Teniendo en cuenta que este autor administró la cafeína por vía oral, el referirse a una ecuación poliexponencial no permite discriminar entre un comportamiento mono, bicompartimental, etc.

Nuestros resultados son coincidentes con el trabajo de Blanchard (1983). En dicho trabajo se utiliza, a semejanza del nuestro, K_{el} o β para extrapolar las áreas bajo la curva, dependiendo del modelo farmacocinético encontrado para cada sujeto (mono o bicompartimental). Es decir, para algunos individuos los puntos experimentales se ajustaban mejor a un modelo monocompartimental mientras que en otros sujetos el ajuste fue significativamente mejor con un modelo bicompartimental. Blanchard (1983) realizó su estudio con 10 sujetos sanos y encontró que cuando administraba la cafeína por vía oral, 2 de los individuos mostraron una cinética bicompartimental. Cuando la vía de administración fue la intravenosa, la proporción de "bicompartimentales" aumentó a 5 sujetos.

La proporción de comportamientos bicompartimentales encontrada por Blanchard (1983) cuando administra la cafeína por vía oral (2 de 10) es semejante a la encontrada en nuestro estudio (4 de 14 sujetos sanos). En el presente trabajo se ha estudiado si el hecho de presentar cirrosis, sobrepeso o ascitis podría influir en el tipo de modelo farmacocinético, pero no hemos encontrado diferencias en la distribución de frecuencias de modelos mono o bicompartimentales debidas a ninguno de estos factores (tabla IV.23).

Parece lógico que el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), que fue muy corto en general, pero extraordinariamente corto en varios de los sujetos, tenga alguna influencia. En aquellos en que la $c_{m\acute{a}x}$ se alcanzó más tarde, mientras duró la absorción, la cafeína estaba pasando al compartimento periférico y al alcanzarse este punto, el compartimento central y el periférico estaban ya en equilibrio, por lo que a partir de aquí su eliminación se ajustaba bien a un modelo monocompartimental. En estos casos la K_{ab} encontrada englobaría también el proceso de distribución. Es sugerente en este sentido el trabajo de Blanchard (1983), donde varía la proporción de bicompartimentales en función de la vía de administración utilizada, tratándose de los mismos individuos.

En nuestro trabajo, la media del $t_{m\acute{a}x}$ en los individuos monocompartimentales es próxima a las dos horas, mientras que los individuos bicompartimentales presentan un $t_{m\acute{a}x}$ próximo a una hora, si bien las diferencias entre estas medias no es estadísticamente significativa.

V.3 EFECTO DE VARIOS FACTORES (TABACO, CAFÉ Y ALCOHOL) SOBRE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE LA CAFEÍNA

-TABACO: El tabaco es un factor que aumenta la velocidad de eliminación de la cafeína, lo que ha sido puesto de manifiesto por varios autores (Parsons, 1978), (Kotake, 1982), (Joeres, 1988), (Murphy, 1988), que han comprobado una elevación del aclaramiento y una disminución de la vida media en fumadores con respecto a la población que no fuma. Este efecto del tabaco era previsible si tenemos en cuenta que la vía metabólica más importante cuantitativamente de la cafeína la constituye las N-desmetilaciones que sufre esta sustancia para dar lugar metabolitos dimetilados (Cornish, 1957), (Wietholtz, 1981), (Kotake, 1982), (Grant, 1983a), y que el responsable de estas desmetilaciones parece ser el sistema citocromo P-450, en particular el isoenzima P-448 (P₁-450) o citocromo inducible por hidrocarburos policíclicos aromáticos (Aldridge, 1977), (Parsons, 1978), (Tang, 1983), (Bonati, 1984), (Geneve, 1990).

Aunque nuestros resultados son coincidentes con los de Scott (1989) que no encontró relación entre el hábito de fumar y la cinética de la cafeína, estimamos que la ausencia de diferencias significativas entre fumadores y no fumadores se debe, en nuestro estudio, más al tamaño de la muestra investigada que a una discrepancia con los autores citados anteriormente. En este sentido, cabe resaltar que tanto los valores del aclaramiento como de la vida media, en todos los grupos, apuntan a un metabolismo aumentado de la cafeína debido al efecto del tabaco (tabla IV.24).

-CAFÉ: En nuestro estudio no se han observado diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos de la cafeína debidas al consumo de café, en ninguno de los grupos objeto de estudio (tabla IV.25). Estos resultados son coincidentes con los de George (1986). Caraco (1990) encontró un aumento significativo del aclaramiento de la cafeína, posiblemente debido a una inducción enzimática de la función oxidasa mixta. En el presente trabajo, dado el tamaño de la muestra analizada y la falta de un diseño apropiado para investigar el efecto inductor de la cafeína sobre su propio metabolismo, no podemos obtener conclusiones sobre si el consumo crónico de café influye o no sobre el metabolismo de la cafeína.

-ALCOHOL: En el trabajo antes mencionado, George (1986) encontró una disminución del aclaramiento (36%) y un aumento de la vida media (72%) de la cafeína, al estudiar el efecto de una ingesta aguda de etanol (50 g/día durante una semana). En nuestro trabajo, a diferencia de éste, el efecto que se ha estudiado (tabla IV.26) ha sido el del consumo crónico de alcohol, cuyo efecto inductor del sistema microsomal hepático es conocido desde hace tiempo (Kater, 1969), (Sandor, 1989), (Hoyumpa, 1982).

El consumo crónico de alcohol puede acelerar la eliminación de la cafeína en los sujetos sanos, induciendo su metabolismo en hígados normales o bien por su efecto sobre el flujo urinario. Es conocido que el etanol ejerce un efecto diurético. Aunque es indudable que la gran cantidad de líquido ingerido habitualmente con las bebidas alcohólicas contribuye, el etanol en sí produce una respuesta diurética pronunciada en el hombre, debida al efecto inhibitor sobre la secreción de ADH (Rall, 1991). Por otro lado, Trang (1985) ha comprobado como el aumento en el flujo urinario se correlaciona bien con el aumento en el aclaramiento de la cafeína. Este investigador sugiere como explicación para esta observación que el aumento del flujo urinario produce un incremento en el aclaramiento renal de la cafeína y de sus metabolitos dimetilados inicialmente formados. Este incremento aumenta el aclaramiento no renal de la cafeína al disminuir el efecto competitivo para su desmetilación, por parte de sus metabolitos dimetilados.

En cualquier caso, debido al diseño experimental de nuestro estudio, ha sido imposible aislar el efecto de estos tres factores (tabaco, café y alcohol) ya que, en general, los sujetos que fumaban también bebían y eran consumidores habituales de café. Aunque el efecto del tabaco ha sido suficientemente estudiado en numerosos trabajos, queda por aclarar los efectos del consumo crónico y agudo del etanol, así como la influencia de la ingesta de café sobre la farmacocinética de la cafeína, tanto en la población sana como en los pacientes cirróticos.

V.4 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CAFEÍNA EN SALIVA

La observación de que las concentraciones de un fármaco en saliva son a menudo proporcionales a las concentraciones séricas o plasmáticas ha llevado, en numerosas

investigaciones (Danhof, 1978), (Paxton, 1979), a sustituir la sangre por saliva para realizar los estudios farmacocinéticos. Entre los realizados con cafeína destacan: Newton (1981), Zylber-Katz, (1984), Jost (1985 y 1987), Kraemer (1988), Scott (1989).

Las ventajas de utilizar la saliva en sustitución de la sangre son evidentes: la obtención de la saliva no es agresiva, se puede obtener un número elevado de muestras sin someter al paciente a numerosas venipunciones o a la implantación de una vía. Como consecuencia de lo anterior, no existe riesgo de infección ni se dañan las venas de los individuos objeto del estudio.

Nuestros resultados indican que las concentraciones de cafeína, en saliva, son un 74 por ciento de las obtenidas en suero. Estos valores están de acuerdo con otros publicados anteriormente (Newton, 1981), (Zylber-Katz, 1984), (Jost, 1987), etc. Aunque se ha señalado (Zilber-Katz, 1984) que la relación del pH de la saliva con relación al plasma podría influir en la proporción de cafeína de la saliva respecto al plasma, el valor tan bajo del pK_a de la cafeína (0.80) hace poco probable este hecho (Mucklow, 1982). Además, se sabe que el pH de la saliva depende del flujo de la misma, por lo que en nuestro estudio, las muestras de saliva se obtuvieron sin estimulación previa de la misma.

Hay numerosas publicaciones (Danhof, 1978), (Paxton, 1979), etc., que señalan que las concentraciones de algunos fármacos en saliva son proporcionales a las concentraciones de la fracción no unida a proteínas plasmáticas o fracción libre, mientras las concentraciones séricas o plasmáticas generalmente reflejan (salvo que se indique lo contrario) la fracción libre más la fracción unida a proteínas plasmáticas (Danhof, 1978). De la concentración sérica total de cafeína sólo un treinta por ciento está unida a la albúmina plasmática (Desmond, 1980), (Patwardham, 1980), (Wallhänder, 1985b). Por otro lado, el contenido de albúmina en saliva es inferior a 0.1 g/l (Zengo, 1971). Debido a esto, las concentraciones salivales de cafeína probablemente reflejen las concentraciones de la fracción libre, aunque son ligeramente superiores a lo que cabiera esperar si coincidieran exactamente con esta fracción, sin que sepamos explicar a que se debe esta diferencia.

Los resultados obtenidos en los parámetros farmacocinéticos de la cafeína usando las

muestras de saliva, no difieren significativamente de los publicados previamente por otros autores, aunque nuestros resultados del aclaramiento salival de cirróticos son ligeramente inferiores a los hallados por Jost (1987) y por Scott (1989). En su estudio, Jost utilizó un modelo de regresión lineal y sólo dos muestras de saliva para hallar las constantes farmacocinéticas. Además, empleó un volumen de distribución fijo e igual para todos los pacientes. Scott (1989) estudió una muestra de 19 cirróticos, que es sensiblemente inferior a la investigada en nuestro trabajo. Por otro lado, hemos encontrado que tanto el aclaramiento como la vida media salival se correlacionan estrechamente con el aclaramiento y la vida media sérica, respectivamente, por lo que podemos concluir que estos parámetros farmacocinéticos pueden ser estimados correctamente a partir de los correspondientes salivales (tabla IV.27 y figura IV.13).

En relación con el volumen de distribución, nuestros resultados indican un ligero aumento de este parámetro cuando se calcula a partir de datos salivales en relación a cuando es hallado a partir de datos séricos, pero no hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre estos valores.

V.5 CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS (Cl y $t_{1/2}$) DE LA CAFEÍNA CON DOS MUESTRAS DE SUERO O DE SALIVA

Para la determinación del aclaramiento y de la vida media a partir de dos únicas muestras se usaron las ecuaciones III.9 a III.13 del apartado III.3.5. Las ecuaciones III.10 a III.12 suponen una simplificación del modelo a una representación monocompartimental para una administración intravenosa. El utilizar la vía oral no era previsible que indujera un gran error, dada la gran velocidad de absorción de la cafeína ($K_{ab} \gg K_e$).

Para el grupo de sanos, las mejores estimaciones de los parámetros farmacocinéticos se obtienen con las muestras obtenidas en los tiempos 3 y 12 o 24 horas. Dentro del grupo de cirróticos, los tiempos óptimos de muestreo son 3 o 6 y 48 horas. Siempre se entiende que estos tiempos se refieren a partir del momento de la administración de la cafeína. Si lo que se desea es utilizar los parámetros farmacocinéticos de la cafeína como prueba de función hepática, obtener muestras a las 3 y 24 horas, tiene el inconveniente de que si el sujeto es

sano, es bastante probable que a las 24 horas no tenga concentraciones detectables de cafeína (del orden de décimas de $\mu\text{g/ml}$). Si se utilizan los tiempos 3 y 12 horas y el individuo es cirrótico, es posible que en ese espacio de tiempo las caídas de concentraciones de cafeína sean mínimas y, por tanto, elevado el error al estimar los parámetros farmacocinéticos.

Si lo que se desea es conocer si el individuo presenta o no una anomalía funcional del hígado o, incluso, si este comportamiento hepático es muy anormal estos inconvenientes que acabamos de mencionar no deben constituir un problema ya que, tanto en un caso como en el otro, la diferencia en la eliminación de la cafeína permitirá aproximarnos a su comportamiento hepático. Además es posible, con este mismo fin, utilizar las concentraciones de cafeína obtenidas a las 24 o 48 horas de la administración de la misma, sin necesidad de calcular sus parámetros farmacocinéticos. Esta posibilidad será discutida más adelante.

Ninguno de los autores que han recurrido a la simplificación del modelo farmacocinético para realizar los cálculos (asimilar el modelo a un solo compartimento y suponer una administración intravenosa cuando en realidad administran la cafeína por vía oral) (Jost, 1987), (Varagnolo, 1989), ha comprobado si el realizar tales simplificaciones podría afectar significativamente a los resultados. Dvorchik (1978) advirtió sobre el error que se puede cometer al calcular el aclaramiento a partir de un modelo monocompartimental en fármacos que siguen una cinética bicompartimental. Este error es mínimo en algunos fármacos pero es importante en otros.

Richter (1988) obtuvo dos ecuaciones empíricas para la determinación del aclaramiento de cafeína a partir de una única muestra (la obtenida a las 12 horas de una administración oral). Una de las ecuaciones la utiliza para concentraciones séricas entre 2 y 6.5 $\mu\text{g/ml}$, y la otra, para concentraciones séricas por encima de 6.5 $\mu\text{g/ml}$. Richter señaló en su trabajo la imposibilidad de utilizar estas fórmulas cuando la concentración encontrada sea inferior a 2 $\mu\text{g/ml}$. En nuestro estudio, el 50 por ciento de los sujetos sanos presentaron a las 12 horas concentraciones por debajo de este valor. Además, este autor asume en una de sus fórmulas un volumen de distribución fijo, calculado a partir del peso corporal como:

- V (l/Kg) = 0.42 x peso (Kg). Aunque esta aproximación puede ser de valor en algunos estudios longitudinales, reducirá inevitablemente la sensibilidad de la prueba debido a que las

variaciones interindividuales en el volumen de distribución no son tenidas en cuenta.

Nuestros valores medidos del aclaramiento y vida media (séricos y salivales) obtenidos a partir de dos muestras no presentan diferencias significativas con los calculados a partir del método de diez puntos. Hemos calculado las regresiones que ligan estos dos métodos. Los valores de los coeficientes de correlación son siempre superiores a 0.9. Estos resultados permiten afirmar que no existe problema en considerar un modelo farmacocinético monocompartimental para el cálculo, tanto del aclaramiento como de la vida media, siendo posible estimar con suficiente seguridad, estos parámetros farmacocinéticos a partir de dos únicas muestras de suero o de saliva.

V.6 LA CAFEÍNA COMO PRUEBA DE FUNCIÓN HEPÁTICA EN LA CIRROSIS

V.6.1 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE LA CAFEÍNA

La cirrosis hepática es un proceso patológico en el que existe una gran distorsión de la arquitectura y del funcionamiento del hígado, lo que se traduce en una disminución en la masa funcional hepática. En pacientes con una grave necrosis hepatocelular se ha observado una reducción significativa de las concentraciones del sistema citocromo P-450 y de otros sistemas enzimáticos que actúan sobre el metabolismo de fármacos y xenobióticos (Farrell, 1979).

Estos dos hechos justifican la reducción en el aclaramiento de la cafeína observado en pacientes con una hepatopatía crónica, con independencia de una mayor o menor actividad de sus lesiones.

Desde el año 1976 en que Statland señaló el aumento en la vida media de la cafeína que presentaba un hepatópata alcohólico, los parámetros farmacocinéticos de la cafeína han sido muy usados como indicadores de la función hepática. En muchos de los primeros trabajos, la vida media plasmática o sérica fue el único parámetro medido. Sin embargo, la vida media de un fármaco depende de la distribución de la sustancia y de su aclaramiento, y ambos pueden verse alterados de forma independiente en las enfermedades crónicas

hepáticas como es el caso de la cirrosis (Branch, 1976), (Rowland, 1980). El aclaramiento hepático constituye una medida más exacta de la capacidad del hígado para eliminar una determinada sustancia ya que no depende del volumen de distribución de ésta (Perrier, 1974), (Wilkinson, 1975), (Winkler, 1979), (Rowland, 1980). Posteriormente a Statland (1976) son varias las publicaciones que han estudiado la farmacocinética de la cafeína como indicador del metabolismo hepático de fármacos o como indicador de la función hepática en diversos tipos de hepatopatías (Demas, 1977), (Statland, 1980), (Desmond, 1980), (Wietholtz, 1981), (Renner, 1984), (Wahlländer, 1985a), (Wang, 1985), (Kallow, 1985 y 1986), (Lelo, 1986a), (Jost, 1985 y 1987), (Klooster, 1986), (Marchesini, 1988) (Campbell, 1987a y 1987b), (Wahlländer, 1989)...

Son menos los autores que han investigado la farmacocinética de la cafeína en relación a la cirrosis hepática, sobre todo los que no estudian dentro del mismo grupo, pacientes cirróticos junto con otro tipo de hepatopatías (Scott, 1988 y 1989), (Hasegawa, 1989), (Holstege, 1989)...

A) Diferencias entre los distintos grupos:

En nuestros resultados cabe destacar las diferencias encontradas entre todos los grupos estudiados, con relación al aclaramiento y a la vida media. Tanto el aclaramiento como la vida media (séricos y salivales) son significativamente diferentes ($p < 0.001$) en el grupo de sanos con respecto al grupo de cirróticos compensados. También son distintos ($p < 0.001$) entre el grupo de cirróticos compensados y el de cirróticos descompensados. Destaca en estos resultados la gran variabilidad observada en estos parámetros dentro de cada uno de los grupos, siendo mayor en los grupos de cirróticos que en el grupo de sanos. Los valores que hemos encontrado son semejantes a los de otros trabajos publicados anteriormente ya mencionados.

Con respecto al aclaramiento y la vida media salivales, Scott (1989) no encontró diferencias significativas entre el grupo de sanos y el grupo de cirróticos compensados, aunque su tamaño de muestra fue bastante inferior (29 individuos en total) al del presente trabajo (45 individuos).

Hasegawa (1989) sólo estudió, en relación con la cafeína, la concentración de esta sustancia en ayunas en individuos (sanos y cirróticos) con unas ingestas previas de cafeína en la dieta que no diferían significativamente.

Nuestros resultados son más próximos a los publicados por Holstege (1989). Este investigador dividió a la muestra cirrótica en tres categorías según la clasificación de Child-Turcotte: A (puntuación 5-6), B (puntuación 7-9) y C (puntuación 10-15), y encontró diferencias significativas entre el grupo de sujetos sanos y el de pacientes con cirrosis Child A, en cuanto a la vida media, aclaramiento y área bajo la curva. En nuestro trabajo, con fines prácticos y dado el tamaño de la muestra investigada, hemos dividido a los cirróticos en dos únicas categorías, como ha sido detallado anteriormente, por lo que el estudio del Holstege no es del todo comparable al nuestro.

Con respecto al volumen de distribución, aunque las diferencias entre sanos y cirróticos no alcanzan significación estadística, nuestros resultados parecen indicar que el incremento en el deterioro hepático cursa con un aumento en el volumen de distribución. El grupo de cirróticos descompensados presenta, en nuestro estudio, un valor significativamente superior ($p < 0.01$) al de cirróticos compensados (0.70 l/Kg frente a 0.52 l/Kg). La interpretación de estos resultados podría ser, por un lado, la expansión del volumen circulante que presentan los cirróticos con hipertensión portal moderada sin ascitis, para tratar de compensar la tensión arterial y, por otro, la propia ascitis, que supone una mayor proporción de líquidos en el organismo del paciente cirrótico (Arroyo, 1988).

En la saliva no encontramos diferencias significativas entre los distintos grupos. Scott (1989) encontró una disminución significativa ($p < 0.05$) en el volumen de distribución de los pacientes cirróticos (0.38 l/Kg) en relación con los sanos (0.41 l/Kg), aunque no explicó como había calculado estos valores. Por otro lado, no supo interpretar a qué podía ser debida esta variación. Teniendo en cuenta que existen varias formas de calcular el volumen de distribución, que pueden influir en el resultado final (Rowland, 1989), y que las diferencias encontradas son mínimas, pensamos que esta observación de Scott (1989) en el volumen de distribución a partir de datos salivales puede no ser relevante.

Queda por aclarar en nuestro trabajo, si las diferencias encontradas en los pacientes cirróticos, respecto al aclaramiento o la vida media de la cafeína, son debidas a una disminución en la masa funcional hepática, a una disminución de los sistemas enzimáticos o a ambas.

B) Correlación del Cl y $t_{1/2}$ con la puntuación de Child, albúmina, bilirrubina y tasa de protrombina:

Hemos estudiado la correlación entre la puntuación de Child y la vida media sérica, que resultó ligeramente superior a la encontrada para el aclaramiento. Por otro lado hemos hallado también la relación entre la puntuación de Child y los parámetros salivales. Holstege (1989) estudió la correlación entre el aclaramiento de cafeína y la puntuación de Child-Pugh, y obtuvo un coeficiente de correlación $r = -0.635$ ($p < 0.001$), bastante similar al encontrado por nosotros (Tabla IV.37 y Figura IV.16).

Las correlaciones obtenidas entre la puntuación de Child y los parámetros salivales son significativas pero los coeficientes de correlación son menores que con los parámetros séricos. El valor del AIC (Akaike's Information Criterion) es, en general, siempre superior para el ajuste de los datos salivales que para los datos séricos, lo que indica un peor ajuste de los puntos experimentales de la saliva a la ecuación poliexponencial encontrada. Este peor ajuste puede ser la explicación de la menor correlación encontrada entre la puntuación de Child y los parámetros farmacocinéticos salivales de la cafeína.

La puntuación de Child-Pugh es empírica, pero universalmente aceptada como válida para pronosticar la gravedad de la cirrosis hepática. Sin embargo, Barbare (1985) señaló que la clasificación de Child aporta sólo una escasa información empírica, ya que se correlaciona pobremente con el aclaramiento intrínseco del verde de indocianina, por lo que concluyó en su trabajo que para evaluar correctamente la función hepática (tanto en el pronóstico como en la respuesta a tratamientos) es preferible usar medidas directas de la función hepática mediante técnicas de aclaramiento.

Por otro lado, nuestros resultados indican que el aclaramiento y la vida media de la

cafeína se correlacionan significativamente con los valores de la bilirrubina y albúmina séricas, así como con la tasa de protrombina. Las mejores correlaciones se obtienen al comparar los parámetros farmacocinéticos de la cafeína con la tasa de protrombina, seguido de la albúmina sérica y, por último, de la bilirrubina sérica. Estos resultados son coherentes con los encontrados por otros autores (Holstege, 1989) y con el significado clínico de estos parámetros: tanto la albúmina sérica como la tasa de protrombina se relacionan con la capacidad de síntesis del hígado, que disminuye en la insuficiencia hepática. Sin embargo, la elevación de la bilirrubina sérica puede obedecer a varios factores, por lo que es más inespecífica. Además, su elevación se asocia a otros procesos más que a la insuficiencia hepática en sí.

C) Utilidad de los parámetros farmacocinéticos de la cafeína:

Uno de los problemas señalados por algunos investigadores (Geneve, 1990), (Grant, 1983a), etc., consiste en la gran variabilidad de los parámetros farmacocinéticos de la cafeína, lo que puede dificultar el establecimiento de las desviaciones de los "valores normales" que son atribuibles a la enfermedad hepática, según se ha comentado en el apartado anterior.

En cuanto a la utilidad práctica de la determinación del aclaramiento o de la vida media de la cafeína, hemos de señalar que al haber encontrado diferencias significativas entre todos los grupos estudiados, y al correlacionarse significativamente con la puntuación de Child, esto parece indicar que el aclaramiento de la cafeína tiene interés para discernir si un individuo tiene el hígado sano o si, por el contrario, padece una hepatopatía importante como es la cirrosis. Sin embargo al existir una gran variabilidad en la farmacocinética de la cafeína, ya comentada, puede existir cierto solapamiento entre los valores de los "metabolizadores más lentos" sanos y los "metabolizadores más rápidos" cirróticos compensados. Asimismo pueden solaparse los cirróticos compensados "lentos" con los descompensados "rápidos".

La variabilidad dentro de un mismo grupo de población puede disminuirse si subdividimos a esta población en dos o más subgrupos en relación con los factores que se sabe que afectan a la farmacocinética de la cafeína. Se podría llegar, por tanto, a establecer unos parámetros poblacionales para los distintos subgrupos de población, de forma semejante

a como se hace en Farmacocinética Clínica para la estimación de los parámetros poblacionales en distintos subgrupos de una población dada. Lo que en Farmacocinética Clínica tiene importancia para adecuar la dosis a administrar de un fármaco a un determinado paciente, en la prueba de la cafeína puede ser de gran interés para establecer entre qué valores de aclaramiento o vida media debe oscilar un individuo sano -distintos si es fumador o no, o bien si toma medicamentos que alteran la eliminación de cafeína, etc.- o los valores de un paciente cirrótico -dependiendo también de si fuma o no y, evidentemente, del grado de evolución que presente su cirrosis, además de otros factores que puedan influir en la eliminación de cafeína (medicación concomitante, etc.).

En este contexto cabe señalar que nuestro estudio fue diseñado para comprobar si el comportamiento farmacocinético de la cafeína permitiría distinguir un sujeto sano de otro con una cirrosis latente, a veces difícil de detectar mediante las pruebas clínicas y analíticas convencionales, así como para poder establecer distintas categorías de cirróticos, lo que parece posible a tenor de los resultados obtenidos, con las salvedades que acabamos de mencionar. Queda abierta una nueva vía de investigación para estudiar si esta prueba permitiría distinguir el comportamiento de un sujeto sano respecto de un paciente con una hepatopatía crónica no cirrótica y, a su vez, el de éste con el de un cirrótico compensado.

V.6.2 UTILIDAD DE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS A LAS 6, 12 24 Y 48 HORAS

Han sido varios los investigadores que, desde el trabajo de Renner (1984), han apuntado el valor de la concentración sérica o salival de cafeína obtenida en ayunas como una prueba semicuantitativa de función hepática (Jost, 1987), (Hasegawa, 1989). Sin embargo, la variabilidad inherente a la ingesta diaria de cafeína ha hecho que esta prueba haya sido cuestionada por varios autores (Mooney, 1984). Marchesini (1988) señaló que la cafeína no ofrece ninguna ventaja sobre la antipirina, al estar estos métodos simplificados (concentración en ayunas) fuertemente influidos por los hábitos de la dieta, y encontrar una estrecha correlación entre el aclaramiento de la cafeína con el de la antipirina. Otros autores han tratado de paliar esta variabilidad homologando en lo posible las condiciones previas a la extracción de la muestra en ayunas. Así, Hasegawa (1989) comparó una población sana con

una cirrótica cuyos hábitos en relación al consumo de café no eran significativamente diferentes entre sí. Otros investigadores han preferido administrar una dosis fija de cafeína y después de un cierto tiempo obtener una muestra de sangre o saliva. Wang (1985) encontró diferencias significativas en las concentraciones basales de cafeína en un grupo de nueve pacientes cirróticos frente a otro grupo de diez voluntarios sanos. En este mismo trabajo propone una determinación plasmática doce horas después de una dosis estandarizada de cafeína como una prueba atractiva para medir la función hepática de forma rutinaria.

Coincidimos con Wang (1985) en la necesidad de estandarizar la dosis de cafeína a administrar -después de un período de abstinencia de la misma- y posteriormente medir su concentración sérica o salival. Sin embargo, el tiempo en que dicha determinación debe ser realizada creemos que debe ser a las 24 o 48 horas y no a las 12 horas como indicó Wang (1985). La razón es que, al igual que dicho investigador, hemos encontrado diferencias ($p < 0.001$) en la concentración obtenida a las 12 horas (C-12) entre el grupo de sanos y el cirróticos compensados (tabla IV.40). Sin embargo, en el estudio de Wang no se trató de establecer diferencias entre distintas categorías de pacientes cirróticos. En nuestro trabajo, con el valor de C-12 no hemos encontrado diferencias significativas entre los cirróticos compensados y los descompensados -ni en suero ni en saliva-. No obstante, utilizando la C-24 sí hay diferencias significativas tanto entre el grupo de sanos y el de cirróticos compensados, como entre éste y el grupo de cirróticos descompensados, lo que, en definitiva, permite establecer una cierta graduación dentro de la cirrosis hepática, así como diferenciar el comportamiento de un sujeto sano del de otro con una cirrosis latente. Porque no se trata de discernir entre un individuo sano de otro con un estado avanzado de cirrosis hepática, ya que esto suele ser clínica y analíticamente evidente. Muchos de los trabajos publicados han establecido las comparaciones entre un grupo control -de voluntarios sanos- y otro de pacientes cirróticos, sin especificar que tipo de cirróticos formaban el grupo. Estas comparaciones puede que no tengan demasiado interés en el terreno práctico, a pesar de que se hayan encontrado diferencias significativas, ya que a la media del grupo de cirróticos puede que hayan contribuido de forma importante los valores hallados en cirróticos descompensados, que se alejan enormemente de los valores de los sanos.

Si de lo que se trata es de utilizar un dato de concentración de cafeína con un cierto

valor pronóstico, en una cirrosis ya diagnosticada, la C-48 separa mejor a los cirróticos compensados y descompensados ($p < 0.001$) que la C-24 ($p < 0.05$), aunque en ambos casos las diferencias son significativas. La correlación encontrada entre la C-48 y la puntuación de Child-Pugh es más estrecha que la obtenida con la C-24.

Homologando la ingesta previa de cafeína, las concentraciones obtenidas a las 24 y 48 horas de la administración de una dosis prefijada (200 a 300 mg de cafeína) son una prueba sensible para diferenciar sujetos sanos de cirróticos en sus estadios latentes. Igualmente sería útil para establecer categorías en la evolución de la cirrosis o, quizás, para medir la evolución de la enfermedad en un mismo paciente cirrótico.

Por último, los valores obtenidos de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, de la determinación sérica de cafeína, obtenida a las 24 horas de la administración de la misma, confirman la utilidad de esta prueba diagnóstica, utilizando un valor límite de referencia de $1 \mu\text{g/ml}$. Aunque los resultados de sensibilidad, especificidad, etc., obtenidos con la concentración de las 48 horas son semejantes a los obtenidos con la concentración de 24 horas, el punto de corte establecido con la C-48, igual a $0.2 \mu\text{g/ml}$, está en el límite de sensibilidad de nuestra técnica, por lo que consideramos más útil realizar la prueba a las 24 horas que a las 48 horas.

La posible dificultad para el uso rutinario de esta prueba, inherente a la complejidad de la técnica analítica, no debe ser tal si se tiene en cuenta la sencillez de nuestra técnica HPLC. Por otro lado, existen reactivos comercializados para un método de enzimoimmunoanálisis (Ou, 1984), (Zysset, 1984) que se pueden emplear en los equipos habituales con que cuentan los laboratorios de análisis clínicos.

VI) CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1ª).- Se ha validado una técnica analítica para la cuantificación de la cafeína en el suero y la saliva -mediante cromatografía líquida- rápida, sencilla y fiable
- 2ª).- Los datos experimentales de la cafeína se ajustan mejor a un modelo farmacocinético bicompartimental que a un modelo monocompartimental en un tercio de los casos.
- 3ª).- El fluido biológico de elección, para determinar los parámetros farmacocinéticos de la cafeína (aclaramiento y vida media) es el suero.
- 4ª).- Los parámetros farmacocinéticos calculados a partir de las muestras de saliva se correlacionan estrechamente con los obtenidos a partir del suero en los pacientes con cirrosis hepática, por lo que la saliva puede ser usada en estos pacientes, como alternativa, cuando la venipuntura esté desaconsejada.
- 5ª).- Con la obtención de dos únicas muestras, séricas o salivales, en la fase terminal de eliminación es posible calcular el aclaramiento y la vida media con suficiente fiabilidad.
- 6ª).- Los parámetros farmacocinéticos séricos y salivales de la cafeína -aclaramiento y vida media- son útiles para discriminar entre sujetos sanos y enfermos con cirrosis hepática.
- 7ª).- Los parámetros farmacocinéticos séricos y salivales de la cafeína -aclaramiento y vida media- permiten establecer diferencias entre los pacientes con cirrosis hepática compensada y los pacientes con cirrosis descompensada.
- 8ª).- Administrando por vía oral, una dosis estándar de cafeína, su concentración sérica obtenida al cabo de las 24 horas, nos permite detectar, con una alta sensibilidad y especificidad, el trastorno de la función hepática asociado con la cirrosis.

9ª).- Por último, y como resumen, podemos concluir que la cafeína puede ser usada para valorar la función hepática, en la cirrosis, sin los inconvenientes derivados de la complejidad que suele acompañar a otras pruebas cuantitativas de función hepática.

VII) BIBLIOGRAFÍA

- Abbott PJ. Caffeine: A toxicological overview. *Med J Aust* 1986; 145:518-521.
- Abernethy DR, Todd EL. Caffeine disposition in obese man. *J Clin Pharmacol* 1984; 24:409.
- Abernethy DR, Todd EL, Schwartz JB. Caffeine disposition in obesity. *Br J Clin Pharmacol* 1985a; 20:61-66.
- Abernethy DR, Todd EL. Impairment of caffeine clearance by chronic use of low-dose "oestrogen-containing oral contraceptives". *Eur J Clin Pharmacol* 1985b; 28:425-428.
- Akaike H. An information criterion (AIC). *Math Sci* 1976; 14:5-9.
- Aldridge A, Parsons WD, Neims AH. Stimulation of caffeine metabolism in the rat by 3-methylcholantrene. *Life Sci* 1977; 21:367-374.
- Aldridge A, Aranda JV, Neims AH. Caffeine metabolism in the newborn. *Clin Pharmacol* 1979; 25:447-453.
- Alkaysi HN, Salem MS, El-Sayed YM. HPLC analysis of caffeine concentrations in plasma and saliva. *J Clin Pharm Ther* 1988; 13:109-115.
- Anderson KE, Conney AH, Kappas A. Nutrition and oxidative drug metabolism in man: relative influence of dietary lipids, carbohydrate and protein. *Clin Pharmacol Ther* 1979; 26:493-501.
- Anderson KE. Influence of diet and nutrition on clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1988; 14:325-346.
- Andreasen PB, Ranek L, Statland BE, Tygstrup N. Clearance of antipyrine dependence of quantitative liver function. *Eur J Clin Invest* 1974; 4:129-134.
- Andreasen PB, Hendel J, Greisen G, Hurdberg EF. Pharmacokinetics of diazepam in disordered liver function. *Eur J Clin Pharmacol* 1976; 10:115.
- Arenas JL. Valor actual de las pruebas de función bioquímica en las enfermedades hepáticas. En: *Avances en enfermedades digestivas*. Madrid: CEA (Jarpyo), 1989; 51-58.
- Arroyo V, Ascitis. En: Farreras P, Rozman C eds. *Medicina Interna*. Barcelona: Ediciones Doyma, 1988; 283-288.
- Axelrod J, Reinchenal J. The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107:519-523.
- Badcock NR. Simpler measurement of caffeine and Paraxanthine in saliva. *Clin Chem* 1990; 36:391.

Barbare JC, Poupon RE, Jaillon P, Prod'homme S, Darnis F, Poupon RY. Intrinsic hepatic clearance and child-turcotte clasification for assessment of liver function in cirrhosis. *J Hepatol* 1985; 1:253-259.

Barnett G, Segura J, de la Torre R, Carbó M. Pharmacokinetic determination of relative potency of quinolone inhibition of caffeine disposition. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 39:63-69.

Beach CA, Mays DC, Guiler RG, Jacober CH, Gerber N. Inhibition of elimination of caffeine by disulfiram in normal subjects and recovering alcoholics. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39:265-270.

Bechtel YC, Joanne C, Grandmottet M, Bechtel PR. The influence of insulin-dependent diabetes on the metabolism of caffeine and the expression of the debrisoquine oxidation phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 44:408-417.

Berkow R, Fletcher AJ. Hepatología. En: *El Manual Merck*. 8ª edición. Barcelona: Doyma, 1989; 924-999

Berlin CM, Denson HM, Daniel CH, Ward RM. Disposition of dietary caffeine in milk, saliva and plasma of lactating women. *Pediatrics* 1984; 73:59-63.

Biaggioni I, Paul S, Robertson D. A simple liquid-chromatographic method applied to determine caffeine in plasma and tissues. *Clin Chem* 1988; 34:2345-2348.

Bianchetti MG, Kraemer R, Passweg J, Jost J, Preisig R. Use of salivary levels to predict clearance of caffeine in patients with Cystic Fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7:688-693.

Birkett DJ, Dahlgust R, Miners JO, Lelo A, Billing B. Comparison of theophylline and theobromine metabolism in man. *Drug Metab Dispos* 1985; 13:725-728.

Blanchard J, Mohammadi JD, Conrad KA. Improved liquid-chromatographic determination of caffeine in plasma. *Clin Chem* 1980; 26:1351-1354.

Blanchard J. Protein binding of caffeine in young and elderly males. *J Pharm Sci* 1982; 71:1415-1418.

Blanchard J, Sawers SJA. The absolute bioavailability of caffeine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 24:93-98.

Blanchard J, Sawers SJA, Jongman JHE, Tang Liu DD. Comparison of the urinary metabolite profile of caffeine in young and elderly males. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 19:225-232.

Blaschke TF. Protein binding and kinetics of drug in liver diseases. *Clin Pharmacokinet* 1977; 2:32-34.

Bonati M, Latini R, Galletti F, Young JF, Tognoni G, Garattini S. Caffeine disposition after oral doses. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 32:98-106.

Bordás JM, Teres V, Sánchez-Tapias JM. Pruebas hepáticas. En: Farreras P Rozman C eds. *Medicina Interna*. Barcelona: Doyma, 1992; 255-258.

Boxenbaum HG, Riegelman S, Elashoff RM. Statistical estimations in Pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* 1974; 2:123-148.

Branch RA, James JA, Read AE. The clearance of antipyrine and indocyanine green in normal subjects and in patients with chronic liver disease. *Clin Pharmacol Ther* 1976a; 20:81-89.

Branch RA, Morgan MH, James JA, Read E. Intravenous administration of diazepam in patients with chronic liver disease. *Gut* 1976b; 17:975-983.

Branch RA, Shand DG. Propranolol in chronic liver disease: A physiological approach. *Clin Pharmacokinet* 1976c; 1:264-279.

Branch RA. Drug as indicators of hepatic function. *Hepatology* 1982; 2:97-105.

Breimer DD, Zilly W, Richter E. Pharmacokinetics of hexobarbital in acute hepatitis and after apparent recovery. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 18:433-440.

Breimer DD. Interindividual variations in drug disposition. Clinical implications and methods of investigations. *Clin Pharmacokinet* 1983; 8:371-377.

Breyer-Pfaff H, Jerg H, Petruch F. Cyclobarbitol as test substance for oxidative drug metabolism in man, findings in neuropsychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol* 1979; 15:433-441.

Broughton LJ, Rogers HJ. Decreased systemic clearance of caffeine due to cimetidine. *Br J Clin Pharmacol* 1981; 12:155-159.

Bruguera M, Ballesta AM. Exámenes bioquímicos. En: Bruguera M, Bordás JM, Rodes J, eds. *Técnicas de exploración y diagnóstico en Hepatología*. Barcelona: Salvat, 1990; 11-24.

Burg AW. Physiological disposition of caffeine. *Drug Metab Rev* 1975; 4:199-228.

Burnstein AV, Galambos JT. [¹⁴C] Aminopyrine Breath test in chronic liver disease. Preliminary diagnostic. Implications. *Dig Dis Sci* 1981; 26: 1078-1083.

Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L, Guevara L, Sherlock S. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. *Clin Sci* 1961; 21:43-57.

Callahan MM, Robertson RS, Arnaud MJ, Branfman AR, McComish MF, Yesair DW. Human metabolism of [1-methyl-¹⁴C] and [2-¹⁴C] caffeine after oral administration. *Drug Metab Dispos* 1982; 10:417-423.

Campbell ME, Grant DM, Inaba T, Kalow W. Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theophylline and theobromine by polycyclic aromatic hydrocarbon-inducible cytochrome (s) P-450 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1987a; 15:237-249.

Campbell ME, Spielberg SP, Kalow W. A urinary metabolite ratio that reflects systemic caffeine clearance. *Clin Pharmacol Ther* 1987b; 42:157-165.

Caraco J, Zylber-Katz E, Gramt L. Does restriction of caffeine intake affect mixed function oxidase activity and caffeine metabolism? *Biopharm Drug Dispos* 1990; 11:639-643.

Carbó M, Segura J, Torre R, Badenas JM, Canú J. Effect of quinolones on caffeine disposition. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 45:234-240.

Carmena R, Pérez-Fuensalida FJ, Alcocer F. Pruebas funcionales y otros métodos de exploración del hígado. En: Carmena R, Dalmau M, Foz M, eds. *Bases de la Medicina Interna*. Barcelona: Toray, 1982:1000-1011.

Carrasco JL. *El método estadístico en la investigación médica*. 4ª ed. Madrid: Ciencia-3, 1989.

Carski TR, Staller BJ, Hepner G, Banka VS, Finney RA. Adverse reactions after administration of indocyanine green. *JAMA* 1978; 240:635.

Cheng WSC, Murphy TL, Smith MT, Cooksley WGE, Halliday JW, Powell LW. Dose-dependent pharmacokinetics of caffeine in humans: Relevance as a test of quantitative liver function. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 47:516-524.

Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. En: Child CG eds. *The liver and portal hypertension*. Philadelphia: WB Sanders, 1964; 50-62.

Chopra S, Griffin PH. Laboratory test and diagnostic procedures in evaluation of liver disease. *Am J Med* 1985; 79:221-229.

Christensen E, Schlichting P, Fauerholdt L, Gluud C, Andersen PK, Juhl E, Poulsen H, Tygstrup N. Prognostic value of Child-Turcotte criteria in medically treated cirrhosis. *Hepatology* 1984; 4:430-435.

Clark DWJ. Genetically determined in acetylation and oxidation: therapeutic implications. *Drugs* 1985; 29:342-375.

Cohen JL, Cheng C, Henry JP, Chan YL. GLC determination of caffeine in plasma using alkali flame detection. *J Pharm Sci* 1978; 67:1093-1095.

Conn HO. A peek at the Child Turcotte classification. *Hepatology* 1981; 1: 673-676.

Cornish HM, Christman AA. A study of metabolism of theobromine, theophylline and caffeine in man. *J Biol Chem* 1957; 228:315-329.

Cummings AJ. A survey of pharmacokinetic data from pregnant women. *Clin Pharmacokinet* 1983; 8:344-345.

Danhof M, Breimer DD. Therapeutic drug monitoring in saliva. *Clin Pharmacokinet* 1978; 3:39-57.

Danhof M, Groot van der Vis E, Breimer DD. Assay of antipyrine and its primary metabolites in plasma, saliva and urine by HPLC and some preliminary results in man. *Pharmacology* 1979; 18:210-223.

Danhof M, Van Zuilen A, Boeijinka JK, Breimer DD. Studies of the different metabolic pathways of antipyrine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 21:433-441.

Danhof M, Teunissen WE. Antipyrine as a model drug to assess oxidative drug metabolism activity in man. *Pharm Int* 1984; 183:11-15.

Dan-Shya D, Tang-Liu D, Rielgelman S. An automated HPLC assay for simultaneous quantification of methylated xantines and uric acids in urine. *J Chromatogr Sci* 1982; 20:155-159.

Dan-Shya D, Tang-Liu D, Williams RL, Rielgelman S. Disposition of caffeine and its metabolites in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 224:180-185.

Delbeke FT, Debackere M. The influence of diuretics on the excretion and metabolism of doping agents part IV-caffeine. *Biopharm Drug Dispos* 1988; 9:137-145.

Demas T, Statland BE. Prolonged half-life of serum caffeine in patients with hepatic insufficiency. *Clin Chem* 1977; 23:156.

Desmond P, Patwardhan RH, Johnson RF, Schenker S. Impaired elimination of caffeine in cirrhosis. *Drug Dis Sci* 1980; 25:193-197.

Dodge RH. Caffeine no longer measurable with theophylline channel of the TDx. *Clin Chem* 1985; 31:496.

Dorantes Calderón B, Lucero Muñoz; M^aJ, Herrera Carranza J. Utilización de la cafeína como indicador de función hepática: Fundamento biológico y farmacocinético. *Farm Clin* 1988; 5:610-622.

Dunne A. A new iterative polyexponential curve stripping program. *Comput Meth Programs Biomed* 1985; 20:269-275.

Dvorchik BH, Vesell ES. Significance of error associated with use of the one compartment formula to calculate clearance of thirty-eight drugs. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23:617-623.

Edwards DJ, Bowles SK, Svensson CG, Rybak MJ. Inhibition of drug metabolism by quinolone antibiotics. *Clin Pharmacokinet* 1988; 15:194-204.

El-Yarigi A, Chaleibi K, Martin CR. Acetylator phenotypes of Saudi Arabians by a simplified caffeine metabolite test. *J Clin Pharmacol* 1989a; 29:246-250.

El-Yarigi A, Chaleibi K, Martin CR. A simplified and rapid test acetylator phenotyping by use of the peak height ratio of urinary caffeine metabolites. *Clin Chem* 1989b; 35:848-851.

Escartín P. Pruebas de función hepática. En: Vilardell F, Rodés J eds. *Enfermedades digestivas*. Madrid: CEA (Jarpyo), 1990; 1773-1780.

Evans WE, Relling MV, Petros WP, Meyer WH, Mirro Jr J, Crom WR. Dextromethorphan and caffeine as probes for simultaneous determination of debrisoquin-oxidation and N-acetylation phenotypes in children. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 45:568-573.

FARMACOPEA EUROPEA. II Ed. Comisión de la Farmacopea Europea, 1988.

Farrell GC, Cooksley WGE, Powell LW. Drug metabolism in liver disease: activity of hepatic microsomal metabolizing enzymes. *Clin Pharmacol Ther* 1979; 26:483-492.

Fazio A, La M. Caffeine. Oral contraceptives and over-the-counter drugs. *Arch Intern Med* 1989; 149:1217-1222.

Florez J, Armijo JA, Mediavilla A. Procesos de metabolización de fármacos. En: *Farmacología humana*. Pamplona: Eunsa Navarra S.A., 1987; 67-77.

Friesen CE. Soft drink caffeine content... U.S./Canadian style. *Can J Hosp Pharm* 1986; 39:84.

Galambós JT. *Cirrosis hepática*. Barcelona: Ediciones Doyma, 1982.

Galizzi J, Long RG, Billing BH, Sherlock S. Assessment of the (¹⁴C) aminopyrine breath test in liver disease. *Gut* 1978; 19:40-45.

Gardiner ME, Kailis SG, Tandon MK. Serum caffeine levels in hospitalized patients. *Med J Aust* 1986; 145:111-112.

Gaspari F, Bonati M. Correlation between n-octanol/water partition and liquid chromatographic retention for caffeine and its metabolites, and some structure-pharmacokinetics considerations. *J Pharm Pharmacol* 1987; 39:252-260.

Geneve J, Bergman JF, Caulin C, Segrestaa JM. Méthodes d'exploration du métabolisme hépatique des médicaments chez l'homme. *Thérapie* 1990; 45:91-97.

George CF. Drugs kinetics and hepatic blood flow. *Clin Pharmacokinet* 1979; 4:443-448.

George J, Murphy T, Roberts R, Cooksley WGE, Halliday JW, Powell LW. Influence of alcohol and caffeine consumption on caffeine elimination. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1986; 13:731-736.

Ghoneim MM, Hinrichs JV, Chiang CK, Loke WH. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between caffeine and diazepam. *J Clin Psychopharmacol* 1986; 6:75-80.

Gorodischer R, Zmora E, Ben-Zvi Z, Warszwaski D, Yaari A, Sofer S, Arnaud MJ. Urinary metabolites of caffeine in the premature infant. *Eur J Clin Pharmacol* 1986; 31:497-499.

Grant DM, Tang BK, Kalow W. Variability in caffeine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 1983a; 33:591-602.

Grant DM, Tang BK, Kalow W. Polymorphic N-acetylation of a caffeine metabolite. *Clin Pharmacol Ther* 1983b; 33:355-359.

Grant DM, Tang BK, Kalow W. A simple test for acetylator phenotype using caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 1984; 17:459-464.

Grant DM, Tang BK, Campbell ME, Kalow W. Effect of allopurinol on caffeine disposition in man. *Br J Clin Pharmacol* 1986; 21:454-458.

Griner PF, Mayewski RJ, Mushlin AI, Greenland P. Selection and interpretation of diagnostic tests and procedures. *Ann Intern Med* 1981; 94 (2 Pt):559-563.

Harder S, Staib AH, Beer C, Papenburg A, Stille W, Shah PM. 4-Quinolones inhibit biotransformation of caffeine. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; 35:651-656.

Hardy BG, Lemieux C, Walker SE, Bartle WR. Interindividual and intraindividual variability in acetylation: characterization with caffeine. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 44:152-157.

Hartley R, Smith IJ, Cookman JR. Improved HPLC method for the simultaneous determination of caffeine and its N-demethylated metabolites in plasma using solid-phase extraction. *J Chromatogr* 1985; 342:105-117.

Hasegawa M, Yamada S, Hiramaya C. Fasting plasma caffeine level in cirrhotic patients: Relation to plasma levels of catecholamines and renin activity. *Hepatology* 1989; 10:973-977.

Healy DP, Polk RE, Kanawati L, Rock DT, Mooney ML. Interaction between oral ciprofloxacin and caffeine in normal volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:474-478.

Hepner GW, Vessjell ES, Lipton A, Harvey HA, Wilkinson GR, Schenker S. Disposition of aminopyrine, antipyrine, diazepam and indocyanine green in patients with liver disease or on anticonvulsivant drug therapy: diazepam breath test and correlations in drug elimination. *J Lab Clin Med* 1977; 90:440-456.

Hernández C. *Cirrosis Hepática*. Madrid: CEA (Jarpyo), 1986.

- Holstege A, Staiger M, Haag K, Gerok W. Correlation of caffeine elimination and Child's classification in liver cirrhosis. *Klin Wochenschr* 1989; 67:6-15.
- Hoyumpa AM, Schenker S. Major drug interactions: effect of liver disease, alcohol and malnutrition. *Annu Rev Med* 1982; 33:113-149.
- Huet PM, Villeneuve JP. Determinations of drug disposition in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1983; 3:913-918.
- Hyman J, Zimmerman MD. Pruebas de función hepática. En: Todd-Sanford eds. *Diagnóstico clínico por el laboratorio*. Barcelona: Salvat Editores S.A., 1978; 825-857.
- Ioannides C, Lump PY, Parke DV. Cytochrome P-448 and the activation of toxic chemicals and carcinogens. *Xenobiotica* 1984; 14:119-137.
- Jansen PLM, Chamuleau RAFM, Leevwen Dj van, Schipper HG, Busemann-Sokole E, Heiden MN van der. Liver regeneration and restoration of liver function after partial hepatectomy in patients with liver tumors. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25:112-118.
- Joeres R, Klinker H, Heusler H, Epping J, Hofstetter G, Drost D et al. Factors influencing the caffeine test cytochrome P 448-dependent liver function. *Arch Toxicol* 1987a; 60:93-94.
- Joeres R, Richter E. Mexiletine and caffeine elimination. *N Eng J Med* 1987b; 317:117.
- Joeres R, Klinker H, Hensler H, Epping J, Zilly W, Richter E. Influence of smoking on caffeine elimination in healthy volunteers and in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Hepatology* 1988; 8:575-579.
- Jost G, Gambon R, Rossi E, Preisig R. Non invasive quantification of liver function in children using salivary caffeine clearance. *Hepatology* 1985; 5:955.
- Jost G, Wahllaender A, von Mandach U, Preisig R. Overnight salivary caffeine clearance: a liver function test suitable for routine use. *Hepatology* 1987; 7:338-344.
- Juan D, Worwag EM, Schoeller DA, Kotake AN, Hugues RL, Frederiksen MC. Effects of dietary protein on theophylline pharmacokinetics and caffeine and aminopyrine breath tests. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 40:187-194.
- Jusko WJ. Role of tobacco smoking in pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* 1978; 6:7-39.
- Kalow W. Variability of caffeine metabolism in humans. *Drug Res* 1985; 35:319-324.
- Kanimori GH, Somani SM, Knowlton RG, Perkins RM. The effects of obesity and exercise on the pharmacokinetics of caffeine in lean and obese volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1987; 31:595-600.

- Kappas A, Alvares AR, Anderson KE, Pantuck EJ, Pantuck cb, Chang R, Cooney AH. Effect of charcoal broiled beef on antipyrine and theophylline metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23:445-450.
- Kater RMH, Roggin G, Tobon F, Zieber P, Iber FL. Increased rate of clearance of drugs from the circulation of alcoholics. *Am J Med Sci* 1969; 35:258-263.
- Keiding S. Galactose clearance measurements and liver blood flow. *Gastroenterology* 1988; 94:477-481.
- Kilbane AJ, Silbart LK, Manis M, Beitins IZ, Weber WW. Human N-acetylation genotype determination with urinary caffeine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 47:470-477.
- Klooster MJ, Welsh MB, Balistreri WF, Setchell KDR. Caffeine clearance rate in children with liver disease. *Gastroenterology* 1986; 90:1495.
- Kotake AN, Schoeller DA, Lambert GH, Baker AL, Shaffer DD, Josephs H. The caffeine CO₂ breath test: dosis response and route of N-demethylation in smokers and nonsmokers. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 32:261-269.
- Kraemer R, Passweg J, Jost G, Bianchetti M, Preisig R. Salivary caffeine clearance for measurement of liver function in patients with cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23: 166.
- Lake CR, Rosenberg DB, Gallants S, Zaloga G, Chernow B. Phenylpropanolamine increases plasma caffeine levels. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 47:675-685.
- Lambert GH, Schoeller DA, Kotake AN, Flores C, Hay D. The effect of age, gender, and sexual maturation on the caffeine breath test. *Dev Pharmacol Ther* 1986; 9:375-388.
- Lelo A, Birkett DJ, Robson RA, Miners JO. Comparative pharmacokinetics of caffeine and its primary demethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline. *Br J Clin Pharmacol* 1986a; 22:177-182.
- Lelo A, Birkett DJ, Robson RA. Assesment of caffeine exposure: caffeine content of beverages, caffeine intake and plasma concentrations of methylxanthines. *Clin Pharmacol Ther* 1986b; 39:54-59.
- Lelo A, Miners JO, Birkett DJ, Robson RA. Quantitative assessment of caffeine partial clearances in man. *Br J Clin Pharmacol* 1986c; 22:183-186.
- Lemieux CM, Bartle WR, Hardy BS, Walker SE. Inter- and intra-subject variability in acetylation: Characterization with caffeine. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39:206.
- Lorenzo B, Reinderberg MM. Potential artifacts in the use of caffeine to determine acetylation phenotype. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 28:207-208.

Lux JA, Schomburg G. Influence of polymer coating of capillary surfaces on migration behavior in micellar electrokinetic capillary chromatography. *J High Res Chrom* 1990; 13:145-147.

Marchesini G, Checchia GA, Grossi G, Rossella L, Bianchi GP, Zolli M et al. Caffeine intake, fasting plasma caffeine and clearance in patient with liver diseases. *Liver* 1988; 8:241-246.

May DC, Jarboe CH, VanBakel AB, Williams WM. Effects of cimetidine on caffeine disposition in smokers and non smokers. *Clin Pharmacol Ther* 1982; 31:656-661.

Mays DC, Camisa C, Cheney P, Hilliard JH, Gerber N. Inhibition of caffeine metabolism by P-methoxypsoralen. *Clin Pharmacol Ther* 1987a; 41:246.

Mays DC, Camisa C, Cheney P, Pacula CM, Nawoot S, Gerber N. Methoxalen is a potent inhibitor of the metabolism of caffeine in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1987b; 42:621-626.

Mehta AC. Validation criteria for analytical methods used in pharmacy practice research. *J Clin Pharm Ther* 1989; 14:465-473.

Miceli JN, Aravind MK, Ferrell WJ. Analysis of caffeine: comparison of the manual enzyme multiplied immunoassay (EMIT), automated EMIT, and High-performance-liquid-chromatography procedures. *Ther Drug Monit* 1984; 6:344-347.

Midha KK, Sved SS, Hossie RD, McGilveray IJ. High performance liquid chromatographic and mass spectrometric identification of dimethylxantine metabolites of caffeine in human plasma. *Biomed Mass Spectrometry* 1977; 4:172-177.

Miners JO, Attwood J, Birkett DJ. Theobromine metabolism in man. *Drug Metab Dispos* 1982; 10:672-675.

Miners JO, Attwood J, Wing LMH, Birkett DJ. Influence of cimetidine, sulfinpyrazone and cigarette smoking on theobromine metabolism in man. *Drug Metab Dispos* 1985; 13:598-601.

Mooney HM, Halliday JW, Cooksley WGE, Powell LW. Fasting serum caffeine (FSC) as an index of functional liver mass. *Hepatology* 1984; 4:1021.

Morris ME, Griener JC, Msall ME. N-Acetylase variability in Down's syndrome: Characterization with caffeine. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46:359-366.

Mucklow JC. The use of saliva in therapeutic drug monitoring (review). *Ther Drug Monit* 1982; 4:229-247.

Muir KT, Kunitani M, Riegelman S. Improved HPLC assay for theophylline in plasma and saliva in the presence of caffeine and its metabolites and comparisons with three other assays. *J Chromatogr* 1982; 231:73-82.

Murphy TL, McIvor H, Yap A, Cooksley WGE, Halliday JW, Powell LW. The effect of smoking on caffeine elimination: implications for its use as a semiquantitative test of liver function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1988; 15:9-13.

Navasa M, García-Pagán JC, Bosch J, Rodés J. Valor pronóstico del aclaramiento hepático del verde de indocianina en pacientes con cirrosis hepática y hemorragia por varices esofágicas. *Med Clin* 1992; 98:290-294.

Nawoot S, Wong D, Mays DC, Gerber N. Inhibition of caffeine elimination by verapamil. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43:148.

Nazario M. The hepatic and renal mechanisms of drug interactions with cimetidine. *DICP* 1986; 20:342-348.

Newton R, Broughton LJ, Lind MJ, Morrison PJ, Rogers HJ, Bradbrook ID. Plasma and salivary pharmacokinetics of caffeine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 21:45-52.

O'Connell SE, Zurzola FJ. Rapid quantitative liquid chromatographic determination of caffeine levels in plasma after oral dosing. *J Pharm Sci* 1984; 73:1009-1011.

Oellerich M, Burdelski M, Lautz HU, Schulz M, Schmidt FW, Herrmann H. Lidocaine metabolite formation as a measure of liver function in patients with cirrhosis. *Ther Drug Monit* 1990; 12:219-226.

Orrego H, Israel Y, Blake JE, Medline A. Assessment of prognostic factors in alcohol liver disease: toward a global quantitative expression of severity. *Hepatology* 1983; 3:896-905.

Ou CN, Frawley VL, Ellis JM. Evaluation of the Emit reagent system for measurement of caffeine with the Emit Lab 5000 System and a centrifugal analyzer. *Clin Chem* 1984; 30:887-889.

Parsons WD, Neims AH. Effect of smoking on caffeine clearance. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 24:40-45.

Patsalos PN, Duncan JS, Shorvon SD. Effect of the removal of individual antiepileptic drugs on antipyrine kinetics in patient taking polytherapy. *Br J Clin Pharmacol* 1988; 26: 253-259.

Pathwardhan RV, Desmond PV, Johnson RF, Schenker S. Impaired elimination of caffeine by oral contraceptive steroids. *J Lab Clin Med* 1980; 95:603-608.

Pauwels S, Geugel A, Dive C, Beckers C. Breath $^{14}\text{CO}_2$ after intravenous administration of ^{14}C aminopyrine in liver diseases. *Dig Dis Sci* 1982; 27:49-56.

Paxton JW. Measurements of drugs in saliva: A review. *Methods and Findings Expt Clin Pharmacol* 1979; 1:11-21.

Pelkonen O, Kaltiala EH, Larmie TKI, Karki NT. Comparison of activities of drug-metabolism enzymes un human fetal and adult livers. *Clin Pharmacol Ther* 1973; 14:840-846.

Perrier D, Gibaldi M. Clearance and biological half-life as indices of intrinsic hepatic metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 1974; 191:17-24.

Pessayre D, Lebrec D, Descatoire V, Peignoux M, Benhamou JP. Mechanism for reduced drug clearance in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 1978; 74:566-571.

Pfeifer RW, Notari RE. Predicting caffeine plasma concentrations resulting from consumption of food or beverages: a simple method and its origen. *DICP* 1998; 22:953-959.

Pirovino M, Meister F, Rubli E, Karlaganis G. Preserved cytosolic and synthetic liver function in jaundice of severe extrahepatic infection. *Gastroenterology* 1989; 96:1589-1595.

Plá Delfina JM, Pozo A del. *Manual de iniciación a la Biofarmacia*. Barcelona: Romargraf, 1974.

Poulsen HE, Loft S. Antipyrine as a model drug to study hepatic drug-metabolizing capacity. *J Hepatol* 1988; 6:374-382.

Preisig R. Pharmacogenetics. *Pharm Int* 1983; 4:314-317.

Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleiding oesophageal varices. *Brit J Surg* 1973; 60:646-664.

Rall TW. Hipnóticos y sedantes; etanol. En: Goodman y Gilman eds. *Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. Méjico: Panamericana, 1991; 345-380.

Reichen J, Le M. Verapamil favorably influences hepatic microvascular exchange and function in rats with cirrhosis of the liver. *J Clin Invest* 1986; 78:448-455.

Renner E, Wietholtz H, Hugnenin P, Arnaud MJ, Preisig R. Caffeine: A model compound for measuring liver function. *Hepatology* 1984; 1:38-46.

Richter E, Brachtel D, Hofstetter G, Joeres R, Klinker H, Junggeburth J et al. Einpunktbestimmung der oralen koffeinclearance bei patienten mit lebererkrankungen. *Z Gastroenterologie* 1988; 26:744-749.

Rietveld EC, Broekman MMM, Houben JJG, Eskes TKAB, Rossum JM. Rapid onset of an increase in caffeine residence time in young women due to oral contraceptive steroids. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 26:371-373.

Ritschel WA, Hussain AS, Wetzelsberger N, Lücker PW. Theophylline-ranitidine drug interaction in the beagle dog. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1985; 7:631-636.

Rodés J, Bruguera M, Sánchez-Tapias JM. Pruebas de función hepática. En: Rodés J, Bruguera M, Sánchez-Tapias JM, eds. Manual de las enfermedades del hígado y vías biliares. Barcelona: Científico-Médica, 1982; 45-54.

Rowland M. Plasma protein binding and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 1980; 2:29-37.

Rowland M, Tozer TN. *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and applications*. 2^a ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1989.

Sagraves R, Bradley JM, Delgado MJM, Wagner D, Sharpe GL, Stavchanski S. Pharmacokinetics of caffeine in human breast milk after a single oral dose of caffeine. *DICP* 1984; 18: 507.

Sánchez-Tapias JM. Hepatitis crónica. En: Farreras P, Rozman C eds. *Medicina Interna*. Barcelona: Doyma, 1988; 300-303.

Sandor P, Sellers EM, Dumbrell M, Khouw V. Effect of short -and long- term alcohol abuse on phenytoin kinetics in chronic alcoholics. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30:390-397.

Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of caffeine, theophylline and theobromine in serum and saliva using high performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem* 1984; 21:120-124.

Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Urinary metabolites of caffeine in pregnant women. *Br J Clin Pharmacol* 1986a; 22:475-478.

Scott NR, Chakraborty J, Marks V. Determination of the urinary metabolites of caffeine and theophylline by HPLC: a comparative study of a direct injection and ion-pair extraction procedure. *J Chromatogr* 1986b; 375:321-329.

Scott NR, Stambuk D, Chakraborty J, Marks V, Morgan MY. Caffeine clearance and biotransformation in patients with chronic liver disease. *Clin Sci* 1988; 74:377-384.

Scott NR, Stambuk D, Chakraborty J, Marks V, Morgan MY. The pharmacokinetics of caffeine and its dimethylxanthine metabolites in patients with chronic liver disease. *Br J Clin Pharmacol* 1989; 27:205-213.

Setchel KDR, Welsh MB, Klooster MJ, Balistreri WF. Rapid high performance liquid chromatography assay for salivary and serum caffeine following oral load: An indicator of liver function. *J Chromatogr* 1987; 385:267-274.

Schlabach T, Powers J. Capillary electrophoresis of synthetic molecules. *Inter Lab* 1991; June:26-28.

Sherlock S. Biochemistry of liver disease. En: *Disease of the liver and biliary system*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1979; 37-42.

- Solís JA, Santalla F. Pruebas de función hepática. *Gastroenterol Hepatol* 1984; 7:565-584.
- Sood SP, Green VI, Nieva LL. Routine methods in toxicology and therapeutic drug monitoring by HPLC VI: A rapid microscale method for determination of caffeine in plasma and saliva. *Ther Drug Monit* 1989; 11:361-364.
- Staib AH, Stille W, Dietlein G, Shah PM, Harder S, Mieke S, Beer C. Interaction between quinolones and caffeine. *Drugs* 1987; 34:170-174.
- Statland BE, Demas T, Danis M. Caffeine accumulation associated with alcoholic liver disease. *N Eug J Med* 1976; 295:110-111.
- Statland BE, Demas T. Serum caffeine half-lives. Healthy subjects vs patients having alcoholic hepatic disease. *Am J Clin Pathol* 1980; 73:390-393.
- Stavchanski S, Combs A, Sagraves R, Delgado M, Joshi A. Pharmacokinetics of caffeine in breast milk and plasma after single oral administration of caffeine to lactating mothers. *Biopharm Drug Dispos* 1988; 9:285-299.
- Stavric B, Klassen R. Automated HPLC assay for monitoring caffeine and its metabolites in biological fluids of monkeys consuming caffeine. *J Chromatogr* 1983; 310:107-118.
- Stoltz A, Kaalowitz N. Biochemical test for liver disease. En: Zakim D, Boyer TD, eds. *Hepatology. A text book of liver disease*. Filadelfia: Saunders, 1990; 637-667.
- Sultatos IG, Dvorchik BH, Vesell ES, Shand DG, Branch R. Further observations on relationships between antipyrine half-life, clearance and volume of distribution: an appraisal of alternative kinetics parameters used to assess the elimination of antipyrine. *Clin Pharmacokinet* 1980; 5:263-273.
- Suzuki Y, Uematsu T, Mizuno A, Fujii K, Nakashima M. Determination of caffeine in saliva by HPLC: new method for saliva using filter paper. *Ther Drug Monit* 1989; 11:88-92.
- Tang BK, Grant DM, Kalow W. Isolation and identification of 5-actylamino-6-formylamino-3-methyluracil as a major metabolite of caffeine in man. *Drug Metab Dispos* 1983; 11:218-220.
- Tang BK, Zubovits T, Kalow W. Determination of acetylated caffeine metabolites by high-performance exclusion chromatography. *J Chromatogr* 1986; 375:170-173.
- Tang BK, Kadar D, Kalow W. An alternative test for acetylator phenotyping with caffeine. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 42: 509-513.
- Tarrus E, Cami J, Roberts DJ, Spickett RGW, Celdran E, Segura J. Accumulation of caffeine in healthy volunteers treated with furafylline. *Br J Clin Pharmacol* 1986; 23:9-18.
- Teres J. Insuficiencia hepática aguda grave y encefalopatía hepática. En: Farreras P Rozman C eds. *Medicina Interna*. Barcelona: Doyma, 1988; 308-314.

- Teunissen M, Kleinbloesem C, Leede L, Breimer DD. Influence of cimetidine on steady state concentration and metabolite formation from antipyrine infused with a rectal osmotic mini pump. *Eur J Clin Pharmacol* 1985; 28:681-684.
- Thomson PD, Melmon KL, Richardson JA, Cohn K, Steinbrunn W, Cudihee R, et al. Lidocaine pharmacokinetics in advanced heart failure, liver disease and renal failure in humans. *Ann Intern Med* 1973; 78:499-508.
- Toverud EL, Boobis AR, Brodie MJ. Differential induction of antipyrine metabolism by rifampycine. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 21:155-160.
- Trang JM, Blanchard J, Conrad KA, Harrison GG. Relationship between total body clearance of caffeine and urine flow rate in elderly men. *Biopharm Drug Dispos* 1985; 6:51-56.
- Turnbull JD, Meshriy R, Gere JA, Kochalka G. Caffeine measured in serum from infants from the theophylline channel of the Abbott TDX. *Clin Chem* 1984; 30:1721.
- Tygstrup N. The galactose elimination capacity in subjects and in patients with cirrhosis of the liver. *Acta Med Scand* 1964; 175:281-289.
- Varagnolo M, Plebani M, Mussap M, Nemetz L, Paleari CD, Burlina A. Caffeine as indicators of metabolic functions of microsomal liver enzymes. *Clin Chim Acta* 1989; 183:91-94.
- Vilardell F. Sobre el diagnóstico en patología digestiva. En: *Avances en enfermedades digestivas*. Madrid: CEA (Jarpyo), 1988; 11-12.
- Wahlländer A, Renner E, Preisig R. Fasting plasma caffeine concentration. *Scand J Gastroenterol* 1985a; 20:1133-1141.
- Wahlländer A, Renner E, Karlaganis G. High-Performance Liquid Chromatographic determination of dimethylxanthine metabolites of caffeine in human plasma. *J Chromatogr* 1985b; 338:369-372.
- Wahlländer A, Paumgartner G. Effect of ketoconazole and terbinafine on the pharmacokinetics of caffeine in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 37:279-283.
- Wang T, Kleber G, Stellard F, Paumgartner G. Caffeine elimination: A test of liver function. *Klin Wochenschr* 1985; 63:1124-1128.
- Weidner G, Istvan J. Dietary sources of caffeine. *N Eng J Med* 1985; 313:1421.
- Weiss M. Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clin Pharmacokinet* 1990; 18:419-422.
- Wietholtz H, Voegelin M, Arnaud MJ. Assessment of the cytochrome P-448 dependent liver enzyme system by a caffeine breath test. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 21:53-59.

Wietholtz H, Zysset Th, Kreiten K, Kohl D, Büchsel R, Matern S. Effect of phenytoin, carbamazepine and valproic acid on caffeine metabolism. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 36:401-406.

Wilkinson GR, Shand DG. A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 18:377-390.

Wilkinson GR, Schenker S. Effects of liver disease in drug disposition in man. *Biochem Pharmacol* 1976; 25:2675-2681.

Williams ALB, Hoofisagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis: Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology* 1988; 95:734-739.

Williams RL, Mamelok RD. Hepatic disease and drug pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1980; 5:528-547.

Williams RL. Drug administration in hepatic disease. *New Eng J Med* 1983; 309:1616-1622.

Wilson JE, Williams J, Marshall RW, Richens A, Dijkuis IC, Harteveld AR et al. A survey of caffeine measurements in routine samples submitted for theophylline. *Clin Chem* 1985; 31:1089-1090.

Winkler K, Bass L, Keiding S, Tygstrup N. The physiologic basis for clearance measurements in hepatology. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14:439-448.

Yamaoka K, Nakagawa T, Uno U. Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear Pharmacokinetics Equations. *J Pharmacokinet Biopharm* 1978; 6:165-175.

Yamaoka K, Nakagawa T, Uno U. A Pharmacokinetics Analysis Program (MULTI) for microcomputer. *J Pharmacobiodyn* 1981; 4:879-885.

Zylber-Katz E, Grant L, Levy M. Relationship between caffeine concentrations in plasma and saliva. *Clin Pharmacol Ther* 1984; 36:133-137.

Zeeh J, Lange H, Bosch J, Pohl S, Loesgen H, Eggers R et al. Steady-state extrarenal sorbitol clearance as a measure of hepatic plasma flow. *Gastroenterology* 1988; 95:749-759.

Zengo AN, Mandel ID, Goldman R. Salivary studies in human caries resistance. *Archs Oral Biol* 1971; 16:557-560.

Zysset T, Wahlländer A, Preisig R. Evaluation of caffeine plasma levels by an automated enzyme immunoassay (EMIT) in comparison with a HPLC method. *Ther Drug Monit* 1984; 6:348-354.