

FARMACOCINÉTICA INTRAVENOSA Y UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE LA OXITETRACICLINA EN PALOMAS (*COLUMBA LIVIA*)

Intravenous pharmacokinetics and binding to plasmatic proteins of oxytetracycline in pigeons (*Columba livia*)

Serrano, J. M.*; Ponferrada, C.*; Sanjuán, M. A.**; Hita, J.**; Cárcelos, C. M.**

* Departamento de Farmacología y Toxicología. Universidad de Córdoba.

** Departamento de Ciencias Socio-sanitarias. Universidad de Murcia.

Recibido: 14 septiembre
Aceptado: 30 noviembre

RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado la cinética de la oxitetraciclina tras su administración intravenosa en palomas semidomésticas (*Columba livia*). Realizados los análisis farmacocinéticos correspondientes, se han ajustado los resultados a ecuaciones mono y biexponenciales, resultando más adecuado el ajuste al modelo monocompartimental cuya expresión numérica es la siguiente:

$$C_t = 264.77^{-0.0189t} \text{ mg/l}$$

También se han deducido los parámetros farmacocinéticos más importantes para el modelo monocompartimental, así como para el modelo bicompartimental abierto. Por último se ha realizado el estudio de la unión de la oxitetraciclina a las proteínas plasmáticas de la paloma, obteniéndose un valor de 13.21 mg/l ($2.65 \cdot 10^5 \text{ M/l}$) para la constante de disociación y un porcentaje medio de unión del 55.46%.

Palabras clave: oxitetraciclina, farmacocinética, unión a proteínas, paloma.

SUMMARY

A kinetic survey of oxytetracycline has been carried out after intravenous administration in pigeons (*Columba livia*). After the corresponding pharmacokinetics studies results have shown a more correct adjustment to a monocompartmental pattern than a bicompartmental pattern, the numerical expression of this adjustment is as follows:

$$C_t = 264.77 e^{-0.0189t} \text{ mg/l}$$

In addition it has been found out the more important pharmacokinetics parameters for both compartmental patterns. Finally the binding of oxytetracycline to plasmatic proteins of pigeon has been studied resulting an average union percentage of 55.46% and an association constant of 13.21 mg/l ($2.65 \cdot 10^5 \text{ M/l}$).

Key words: oxytetracycline, pharmacokinetics, proteins binding, pigeon.

INTRODUCCIÓN

La oxitetraciclina (OTC) es un antibiótico del grupo de las tetraciclinas que se utiliza con frecuencia en el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas en la especie humana y en los animales, además de como aditivo alimentario en nutrición animal.

Entre los gérmenes sensibles a este antibiótico de amplio espectro se encuentran las clamidias, entre las cuales la *Chlamidia psittaci*, productora de la Ornitosis-Psitacosis, es muy sensible (Bergoglio, 1985). La Ornitosis-Psitacosis, es una enfermedad cosmopolita que se ha descrito en más de 130 especies de aves salvajes y domésticas (MEYER, 1967), siendo con frecuencia una infección inaparente que puede manifestarse clínicamente a causa de algún estrés (PAGE, 1972).

La proliferación de palomas semidomésticas en las ciudades, así como el desarrollo de la colombicultura pueden contribuir a la diseminación de esta zoonosis, ya que la paloma es una especie que sufre esta infección de forma habitual en diversas regiones geográficas (MILON et al., 1983; BEVAN y BRACEWELL, 1986).

La utilización de la OTC en esta especie es una herramienta terapéutica útil para el control de dicha enfermedad, sobre todo en aquellos animales valiosos, de exposición y de concurso. No obstante, para que el uso sea terapéuticamente adecuado debemos conocer su comportamiento farmacocinético, lo cual permite establecer unos regímenes posológicos correctos.

El presente estudio tiene por objeto el conocer la farmacocinética de la OTC tras su administración intravenosa a dosis única en la paloma y la interacción de este antibiótico con las proteínas plasmáticas, como primera aportación que permita después abordar el estudio farmacocinético por otras vías de administración más usuales y el establecimiento de las pautas posológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Administración intravenosa

Hemos utilizado 55 palomas con pesos comprendidos entre 250 y 260 g que se han dividido aleatoriamente en 11 grupos de cinco animales cada uno, y que fueron sometidos a un ayuno de 24 h antes de la realización de la experiencia.

Uno de los lotes se utilizó como blanco de referencia, mientras que los animales de los restantes diez lotes recibieron clorhidrato de

oxitetraciclina (Panterramicina de Pfizer S.A.) a la dosis de 15 mg/kg de peso vivo mediante inyección en la vena braquial del ala derecha (aproximadamente 0'13 ml/animal).

Cada lote se utilizó para la extracción de sangre a un tiempo determinado que se realizó en la vena braquial izquierda, de la que se extrajo un volumen de 2 ml de cada individuo. Los tiempos de extracción fueron los siguientes expresados en minutos: 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240. Las muestras de sangre fueron inmediatamente centrifugadas en tubos heparinizados a 3.000 rpm en una centrífuga Jouan C-100-Sr durante 15 min para obtener el plasma sobrenadante.

Las determinaciones de OTC se realizaron por el método descrito por HAYES y DUBUY (1964) modificado por MURTHY Y GOSWAMI (1973) en un espectrofluorímetro Shimadzu mod. RF-540, empleando una longitud de onda de excitación de 390 nm y determinando la emisión de fluorescencia a 500 nm.

La conversión de los valores de fluorescencia en valores de concentración se realizó mediante una recta de calibrado obtenida previamente en plasma de paloma.

Unión a proteínas plasmáticas

Se ha empleado el plasma procedente de la sangre de 10 palomas que se sometieron igualmente a un ayuno de 24 h.

El método empleado ha sido el de diálisis en el equilibrio con bolsas de celofán Wisking Dialysis Tubing 8/32 de Serva. Dichas bolsas se prepararon según el método de RUDMAN y KENDALL (1957) modificado por SERRANO et al. (1984). Una vez acondicionadas las bolsas se llenaron con 1 ml de plasma y se enfrentaron a 9 ml de tampón con diferentes concentraciones de OTC. La diálisis se mantuvo durante 24 h a una temperatura ambiente y en la oscuridad. Se realizaron tres series completas al objeto de calcular los valores medios de concentración en el plasma y en los tampones externos. Las concentraciones de OTC empleadas fueron las siguientes: $1'26 \cdot 10^{-4}$; $9'9 \cdot 10^{-5}$; $7'2 \cdot 10^{-5}$; $4'5 \cdot 10^{-5}$; $1'8 \cdot 10^{-5}$; $1'35 \cdot 10^{-5}$; $9 \cdot 10^{-6}$; $9 \cdot 10^{-6}$; y $4'5 \cdot 10^{-6}$ Mol/l, empleando tampón sólo para los blancos. Se realizaron simultáneamente tres series de tampón para obtener la recta de calibrado de los tampones externos.

RESULTADOS

Administración intravenosa

Los valores medios de concentración plasmá-

tica de OTC tras la administración intravenosa aparecen en el cuadro 1 junto con los parámetros de dispersión. La concentración más elevada acontece en la primera extracción para ir descendiendo progresivamente en función del tiempo hasta llegar a los 180 min, momento en el que obtenemos la concentración más baja, ya que las extracciones realizadas a los 240 min fueron todas negativas. Por el contrario, los coeficientes de variación tienden a ser mayores conforme disminuye la concentración media y encontrando que cuando se relacionan entre sí se obtiene un coeficiente de correlación lineal simple de -0.8583 , el cual presenta un alto nivel de significación estadística ($p < 0.01$).

A partir de los valores medios de concentración hemos calculado una ecuación monoexponencial y otra biexponencial que describen el proceso de desaparición de la OTC del plasma de las palomas. Estas ecuaciones obtenidas por

regresión lineal y retroproyección se han ajustado definitivamente mediante el algoritmo de Mardquart (YAMAOKA et al., 1981). Los parámetros de ajuste a ambos modelos se muestran en el cuadro 2). Finalmente el cuadro 3 recoge los parámetros farmacocinéticos más importantes deducidos para los dos modelos.

Unión a proteínas plasmáticas

Los valores medios de concentración de OTC en el plasma del interior de las bolsas y en los tampones externos, así como las diferencias entre ambos (concentraciones totales, libres y conjugadas respectivamente) y los porcentajes de unión se indican en el cuadro 4. Observamos en él que los porcentajes de unión tienden a ser mayores conforme disminuye la concentración de antibiótico. Los valores extremos han sido del 26% y del 86% aproximadamente.

CUADRO 1
VALORES MEDIOS DE CONCENTRACIÓN DE OXITETRACICLINA EN PALOMAS Y PARÁMETROS DE DISPERSIÓN A LOS DISTINTOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN

| TIEMPO (min) | CONCENTRACIÓN MEDIA (mg/l) | DESVIACIÓN TÍPICA | COEFICIENTE DE VARIACIÓN | n |
|--------------|----------------------------|-------------------|--------------------------|---|
| 5 | 248'01 | 55'73 | 27'47 | 5 |
| 10 | 219'64 | 53'89 | 24'54 | 5 |
| 15 | 198'87 | 30'20 | 15'19 | 5 |
| 30 | 140'34 | 37'17 | 26'50 | 4 |
| 45 | 108'52 | 45'92 | 42'31 | 5 |
| 60 | 86'03 | 32'26 | 27'50 | 4 |
| 90 | 56'64 | 29'09 | 51'36 | 5 |
| 120 | 25'97 | 16'39 | 63'12 | 4 |
| 180 | 8,71 | 7'90 | 90'60 | 4 |

CUADRO 2
PARÁMETROS DE AJUSTE A LOS MODELOS FARMACOCINÉTICOS MONO Y BICOMPARTIMENTALES ABIERTOS

| | MONOCOMPARTIMENTAL | BICOMPARTIMENTAL |
|-----------------------------|--------------------|------------------|
| AIC | 9'4896 | 12'2006 |
| r^2_1 | 0'9977 | 0'9980 |
| r^2_2 | 0'9966 | 0'9970 |
| Coefficiente de correlación | 0'9983 | 0'9986 |
| Suma de cuadrados | 1'8403 | 1'5946 |
| Coefficiente de ponderación | $1/Ct^{-1,06}$ | $1/Ct^{-1,06}$ |

DISCUSIÓN

Administración intravenosa

El hecho de utilizar animales que, por su reducido tamaño, imposibilitan establecer una evaluación farmacocinética individual, nos obliga a trabajar con valores medios. Ello obliga a emplear una metodología general que queda bien reseñada por WAGNER (1983) en estudios con estas características. Este autor (WAGNER, 1968) indica que en ensayos de este tipo es frecuente encontrar coeficientes de variación comprendidos entre el 25% y el 75%, ya que las concentraciones a un determinado tiempo se distribuyen normalmente. En estas

condiciones es usual utilizar un número de animales comprendido entre 5 y 20.

En consecuencia, nuestros resultados han de considerarse normales ya que los coeficientes de variación (cuadro 1) se encuentran siempre por debajo del límite máximo. No obstante, en la extracción realizada a los 180 min se obtiene un coeficiente de variación mayor, aunque el valor medio encontrado es uno de los que presentan un error cuadrático bajo (0'0012 para el modelo monocompartmental y 0'1778 para el bicompartimental).

Con respecto a los parámetros de ajuste, observamos que el AIC (criterio de información Akaike) es menor para el modelo monocompartmental abierto, en tanto que los restantes

CUADRO 3
PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEDUCIDOS APLICANDO LOS MODELOS MONOCOMPARTIMENTAL Y BICOMPARTIMENTAL ABIERTOS

| | |
|---|---|
| $Co = 264'77 \text{ mg l}^{-1}$ | $A = 45'98 \text{ mg l}^{-1}$ |
| | $B = 230'00 \text{ mg l}^{-1}$ |
| | $Co = 275'98 \text{ mg l}^{-1}$ |
| | $\alpha = 0'054 \text{ min}^{-1}$ |
| | $\beta = 0'0174 \text{ min}^{-1}$ |
| | $K_{12} = 0'0039 \text{ min}^{-1}$ |
| | $K_{21} = 0'0479 \text{ min}^{-1}$ |
| $Kel = 0'0189 \text{ min}^{-1}$ | $Kel = 0'0196 \text{ min}^{-1}$ |
| $Vd = 0'057 \text{ kg}^{-1}$ | $Vc = 0'054 \text{ l kg}^{-1}$ |
| | $Vd_{ss} = 0'058 \text{ kg}^{-1}$ |
| | $Vd_a = 0'061 \text{ kg}^{-1}$ |
| $t_{1/2} = 36'67 \text{ min}$ | $t_{1/2} \beta = 39'83 \text{ min}$ |
| $Cl = 1'08 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ | $Cl = 1'07 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ |
| $AUC = 14008'99 \text{ mg min l}^{-1}$ | $AUC = 14069'87 \text{ mg min l}^{-1}$ |
| $MRT = 52'91 \text{ min}$ | $MRT = 55'11 \text{ min}$ |
| $VRT = 5598'95 \text{ min}^2$ | $VRT = 6247'63 \text{ min}^2$ |

CUADRO 4
VALORES MEDIOS DE CONCENTRACIÓN TOTAL (EN PLASMA) Y LIBRE (EN TAMPÓN); VALORES DE CONCENTRACIÓN UNIDA Y PORCENTAJES DE UNIÓN DE OTC A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE PALOMO

| CONCENTRACIÓN TOTAL ($X \pm S.D.$) mg/l | CONCENTRACIÓN LIBRE ($X \pm S.D.$) mg/l | CONCENTRACIÓN UNIDA mg/l | % UNIÓN ($\beta/100$) |
|--|--|-----------------------------|----------------------------|
| 101'10 ($\pm 1'93$) | 67'40 ($\pm 20'60$) | 33'70 | 33'33 |
| 72'75 ($\pm 1'26$) | 50'02 ($\pm 6'15$) | 22'73 | 31'24 |
| 57'77 ($\pm 18'81$) | 36'96 ($\pm 3'16$) | 20'81 | 36'02 |
| 31'94 ($\pm 5'18$) | 23'64 ($\pm 5'35$) | 8'30 | 25'99 |
| 24'34 ($\pm 4'55$) | 8'51 ($\pm 5'04$) | 15'83 | 65'04 |
| 33'01 ($\pm 1'49$) | 4'42 ($\pm 0'16$) | 28'59 | 86'61 |
| 18'08 ($\pm 4'70$) | 3'53 ($\pm 0'37$) | 14'55 | 80'48 |
| 10'32 ($\pm 2'33$) | 1'55 ($\pm 0'13$) | 8'77 | 84'98 |

parámetros se inclinan al modelo bicompartimental abierto. Muchos autores encuentran ajustes a modelos bi y tricompartmentales para la OTC en diferentes especies de mamíferos domésticos como PILLOUD (1973), BAGGOT et al. (1977), XIA et al. (1983), etcétera, al igual que ANADÓN et al. (1985) obtiene un modelo bicompartimental abierto para la tetraciclina en gallinas.

En nuestro caso, siguiendo el criterio de YAMAOKA et al. (1978) con respecto al AIC, resulta más adecuado el modelo monocompartmental ya que, como se observa en el cuadro 3, los parámetros tales como constantes de eliminación, aclaramiento, tiempos de vida media, volúmenes de distribución, concentraciones iniciales, etcétera, son muy próximos. Además las relaciones entre las constantes del modelo bicompartimental como α/β y β/K_{el} con valores de 3'1 y de 0'89 respectivamente nos muestran que la simplificación a un modelo más simple es adecuada sin incurrir en errores (PLÁ y DOMENECH, 1982). Abundando todavía más, se observa que la constante de transferencia del compartimento central al periférico (K_{12}) es muy pequeña con respecto a la de retorno (K_{21}), siendo ésta última más de doce veces mayor que la primera. En resumen podemos afirmar que la OTC se distribuye en el palomo siguiendo un modelo monocompartmental abierto.

La distribución de la OTC en los palomos es mucho menor que la que encuentran otros autores en los mamíferos (PILLOUD, 1973; BAGGOT et al. 1977; XIA et al., 1983, etcétera). Igual ocurre con el aclaramiento, mientras que la constante de eliminación es mayor y por lo tanto el tiempo de vida media es mucho menor. Este último parámetro nos informa que el tiempo de permanencia de la OTC en la paloma es corto, por lo que el tiempo que se mantienen concentraciones terapéuticas tras la administración intravenosa también lo es. De ahí que no sea esta la vía de administración adecuada desde el punto de vista farmacocinético, sin considerar los aspectos económicos y de manipulación. Por todo ello no hemos establecido para esta vía de administración los regímenes posológicos.

Unión a proteínas plasmáticas

Los procedimientos de linealización para la unión de fármacos a proteínas plasmáticas (usando plasma total y no alguna de las fracciones proteicas del mismo) han sido descritos por KRÜGER-THIEMER (1961) y por DETTLI and SPRING (1966). Sin embargo, debido a que

cuando se trabaja con plasma es más usual utilizar los porcentajes de unión (GOLDSTEIN et al. 1974; VILLAR y ANSELMI, (1982), es frecuente expresar estos en función de la función « β » o proporción de fármaco unido cuya expresión es la siguiente:

$$\beta = \frac{1}{1 + \frac{Kd}{n(Pt)} + \frac{(F)}{n(Pt)}}$$

que nos da los porcentajes de unión multiplicando simplemente por 100.

A partir de esta función hemos deducido otro sistema de linealización que permite calcular los parámetros de la interacción fármaco-proteína, en concreto la constante de asociación. Para ello operamos es la siguiente manera:

$$\frac{1}{\beta} = 1 + \frac{Kd}{n(Pt)} + \frac{1}{n(Pt)} (F) \text{ y}$$

$$\frac{1}{\beta} - 1 = \frac{Kd}{n(Pt)} + \frac{1}{n(Pt)} (F)$$

con lo que obtenemos la función de una línea recta que nos permite calcular dichos parámetros. De ellos, es sin duda la constante de disociación aparente (Kd) el que realmente nos interesa ya que « $n(Pt)$ » es irrelevante debido a que la solución de proteína que constituye el plasma no es homogénea.

La constante de disociación obtenida es de 13'21 mg/l, o lo que es igual 2'65 10^{-5} Mol/l, expresada en términos de molaridad. El valor de esta constante de disociación es relativamente alto, ya que es aproximadamente diez veces superior a los valores que obtiene PILLOUD (1973) en equinos y bovinos aplicando la ecuación de KRÜGER-THIEMER (1961). Este valor es próximo al que obtienen SERRANO y CÁRCELES (1986) en seroalbúmina humana y superior al que estos autores reportan para la seroalbúmina bovina. Ello implica que los porcentajes de unión sean relativamente elevados, cifrándose en 55'46 su valor promedio.

BIBLIOGRAFÍA

- ANADON, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M.R. and DIAZ, M.J. 1985: Pharmacokinetics of tetracycline in chickens after intravenous administration. *Poultry Sci.* 64 2.273-2.279.
- BAGGOT, J.D.; POWERS, T.E.; POWERS, J.D.; KOWALSKI, J.J. and KERR, K.M. 1977: Pharmacokinetics and dosage of oxytetracycline in dogs. *Res. Vet. Sci.* 24: 77-81.

- BERGOGGIO, R.M. 1985: Antibióticos. 4.^a ed. Médica Panamericana. Buenos Aires.
- BEVAN, B.J. and BRACEWELL, C.D. 1986. Chlamydia-
sis in birds in Great Britain. 2. Isolation of *Chla-
mydia psittaci* from birds' samples between 1976
and 1984. J. Hyg. 96: 453-458.
- DETTEI, L. and SPRING, P. 1966. Pharmacokinetics
der Chemotherapeutika: Theorie and Praxis. Re-
gensb. Jb. Arztl. Fortbildung, B. 14: 17-26.
- GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L. and KALMAN, S.M.
1974: Principles of drug action: The bases of Phar-
macology. 2nd ed. John Wiley and Sons, New
York.
- HAYES, J.E. and DUBUY, H.G. 1964: A simple meth-
od for quantitative estimation of tetracycline anti-
biotics. Analyt. Biochem. 7: 322-327.
- KRÜGER-THIEMER, E. 1961: Theorie der Wirkung
bakteriostatischer Chemoterapeutika. Jahresbericht
Borstel, B. 5: 316-400.
- MEYER, K.F. (1967) The host-spectrum of psittacosis-
lymphogranuloma venereum (PL) agents. Am. J.
Oftalm. 63: 1.225-1.246.
- MILON, A.; GERAL, M.R.; PELLERIN, J.L.; THIESE, I.;
LAUTRE, R. 1983: Enquete sur le portage et l'ex-
cretion de *Chlamydia psittaci* par les pigeons semi-
domestiques (*Columba livia*) de l'agglomeration
toulousaine. Rev. Med. Vet. 134. 10: 559-565.
- MURTHY, U.V. and GOSWAMI, S.L. 1973: A modified
fluorimetric procedure for the rapid estimation of
oxytetracycline in blood. J. Clin. Path. 26: 548-550.
- PAGE, L.A. 1972: Chlamydiosis (Ornithosis). En: Di-
seases of Poultry, 6th ed. M.S. Hofstad (Edit.)
Iowa State University Press, Ames.
- PILLOUD, M. 1973: Pharmacokinetics, plasma protein
binding and dosage of oxytetracycline in cattle and
horses. Res. Vet. Sci. 15: 224-230.
- PLA DELFINA, J.M.^a y DOMENECH, J. 1982: Farmaco-
cinética. En: Perspectivas terapéuticas con su fun-
damento farmacológico. Esplugues, J. ed. vol. III
Saber. Valencia.
- RUDMAN, D. and KENDALL, F.E. 1957: Bile acid
content of human serum. II. The binding of chola-
nic acids by human plasma proteins. J. Clin. In-
vest. 36: 538-542.
- SERRANO, J.M.; CABANAS, L.F. y SANTIAGO, D. 1984:
Estudio de unión de silimarina a proteínas plasmá-
ticas. II. Proteínas de cerdo, ovino, caprino, bo-
vino y hombre. Arch. Zootec. 125: 89-95.
- SERRANO, J.M. y CÉRCELES, C.M. 1986. Estudio de la
unión de oxitetraciclina a seroalbúminas humana y
bovina. An. Vet. (Murcia) 2: 3-6.
- VILLAR, A. y ANSELMÍ, E. 1982: Distribución. En:
Perspectivas terapéuticas con su fundamento far-
macológico. Esplugues, J. ed. vol. VII. Saber, Va-
lencia.
- WAGNER, J.G. 1968. Pharmacokinetics. An. Rev.
Pharmacol. 8: 67-94.
- 1983: Farmacocinética clínica. Reverté, Barce-
lona.
- XIA, W.; NIELSEN, P. and GYRD-HANSEN, N. 1983:
Comparison of pharmacokinetics parameters for two
oxytetracycline preparation in cows. Acta. Vet.
Scandinavica 24: 120-128.
- YAMAOKA, K.; NAKAGAWA, T. and UNO, T. 1978.
Application of Akaike's information criterion (AIC)
in the evaluation of linear pharmacokinetics equa-
tions. K. Pharmacol. Biopharm. 6: 165-175.
- YAMAOKA, K.; TANIGAWARA, Y.; NAKAGAWA, T. and
UNO, T. 1981: A pharmacokinetics analysis pro-
gram (multi) for mic computer. J. Pharm. Dym. 4:
879-885.

BIBLIOGRAFÍA

BRONKHORST, A. 1985: Farmacocinética de tetraciclinas en
chickens after intravenous administration. J. Pharm.
Sci. 74: 127-130.

BRONKHORST, A.B. 1987: Farmacocinética de tetraciclinas
en cerdos. J. Pharm. Sci. 76: 127-130.

BRONKHORST, A.B. and KERR, K.M. 1977: Farmacocinética
de tetraciclinas en cerdos. J. Pharm. Sci. 66: 127-130.

BRONKHORST, A. 1985: Farmacocinética de tetraciclinas en
chickens after intravenous administration. J. Pharm.
Sci. 74: 127-130.

BRONKHORST, A.B. 1987: Farmacocinética de tetraciclinas
en cerdos. J. Pharm. Sci. 76: 127-130.

BRONKHORST, A.B. and KERR, K.M. 1977: Farmacocinética
de tetraciclinas en cerdos. J. Pharm. Sci. 66: 127-130.