

FARMACOCINÉTICA INTRAVENOSA DE LA ASOCIACIÓN OXITETRACICLINA-CALCIO EN GALLINAS

Intravenous pharmacokinetics of oxytetracycline-calcium association in hen

Guimerá, M. E.*,**; Rosado, I.*; Cárceles, C. M.**; Ponferrada, C. J.*;
Serrano, J. M.* ,****

* Departamento de Farmacología y Toxicología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

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

*** Becaria de F.P.I. del M.E.C.

**** Director del trabajo de beca de F.P.I.

Recibido: 15 Octubre 1992

Acceptado: 5 Marzo 1993

RESUMEN

La oxitetraciclina (OTC) puede formar quelatos con el calcio y con otros metales dando lugar a posibles modificaciones farmacocinéticas, perfectamente determinadas para la fase de absorción cuando se administra por vía oral. En el presente trabajo, y como fase inicial de estudios posteriores, estudiamos la farmacocinética intravenosa de la asociación OTC-HCl/CaCl₂ en gallinas. Inmediatamente antes de la administración se preparaba la solución que contenía OTC-HCl (0.02 M) y CaCl₂ (0.01 M) de la que se inyectó 1 mL/kg p.v. (10 mg/kg) por vía intravenosa a las aves cuyos pesos estaban comprendidos entre 1,32 y 1,84 kg. Las muestras de sangre se extrajeron a diferentes tiempos y se procedió a la euantificación de la OTC en plasma por cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Los datos de concentración plasmática con respecto al tiempo se ajustaron a diferentes modelos compartimentales encontrando el modelo de tres compartimentos abiertos como el más adecuado en todos los casos. En cuanto a los sistemas de ponderación de los datos, los mejores ajustes se obtuvieron sin ponderación (1/Cp⁰) en seis animales y con ponderación inversa a la concentración plasmática en cuatro de ellos (1/Cp¹). Se han hallado los parámetros farmacocinéticos correspondientes al modelo tricompartmental en el que se considera un compartimento central desde donde se elimina y se transfiere a dos periféricos entre los cuales no hay paso de OTC.

Palabras clave: Farmacocinética, oxitetraciclina, calcio, gallinas.

SUMMARY

Oxytetracycline can form quelates with calcium and other metals, resulting in possible pharmacokinetic modifications.

The purpose of this study was to establish the pharmacokinetics of the OTC-HCl/CaCl² association after intravenous administration to hens. The antibiotic solution composed of OTC-HCl (0.02 M) and CaCl₂ (0.01 M), was prepared immediately before the administration and injected at dose of 1 mL/Kg b.w. (10 mg/kg b.w.). Blood samples were drawn at different times. The quantification of OTC in plasma was carried out by HPLC methods. Plasma concentration data was fitted to different compartment models, and finally, a three-compartment open model was chosen as the most accurate. As for the weighting of data, the best fitting were obtained without a different weight coefficient (1/Cp⁰) in six animals and with a weight coefficient inverse to the plasma concentration (1/Cp¹) in four animals. Pharmacokinetic parameters were determined corresponding to one central compartment with elimination and distribution to two peripheral compartments without transfer of drug between them.

Key words: Pharmacokinetic, oxytetracycline, calcium, hen.

INTRODUCCIÓN

La oxitetraciclina (OTC) es un antibiótico de amplio espectro y uso muy frecuente en medicina veterinaria para el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas. Este antibiótico es capaz de formar quelatos, con compuestos metálicos divalentes como el calcio, que los hace inabsorbibles por el tracto digestivo (PRESCOTT Y BAGGOT, 1991). La quelación da lugar a un compuesto que muchas veces es insoluble y frecuentemente precipita lo que impide por lo tanto su absorción digestiva, o al menos la hace muy lenta e inconveniente (NEUVONEN, 1976), si bien no parece alterar su actividad antimicrobiana.

En la actualidad nos encontramos estudiando la asociación oxitetraciclina-calcio (OTC-Ca) desde el punto de vista farmacocinético cuando se administra por vía intramuscular al objeto de comparar su comportamiento con el de la oxitetraciclina sola. Para ello hemos de realizar también la administración intravenosa de esta asociación y del antibiótico solo para poder establecer el modelo y los parámetros farmacocinéticos, en los dos casos, en las especies domésticas y su comparación.

La gallina es una especie doméstica de enorme interés comercial desde el punto de vista zootécnico y en grandes colectivos que aporta alimentos de primera necesidad como carne y huevos. En este trabajo se avanzan los resultados de los primeros datos intravenosos de la OTC-Ca en esta especie, centrándose en la elección del modelo farmacocinético y en los parámetros que de él se deducen al objeto de que sirvan de referencia para estudios posteriores en los que se abordarán la farmacocinética de la administración intramuscular y de la eliminación biliar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han empleado diez gallinas ponedoras cuyos pesos han estado comprendidos entre 1,32 y 1,84 kg. Estos animales dispusieron de agua y pienso *ad libitum* durante todo el tiempo hasta unas 4-6 horas antes de iniciar las experiencias. Al iniciar las extracciones de sangre, las aves se sujetaban a una mesa de contención diseñada especialmente y con una caperuza que las mantenía tranquilas durante todo el tiempo que duraba la experiencia. Inmediatamente antes de la administración se preparaba una solución de 10 mg/mL de clorhidrato de oxitetraciclina (0,02 M/L) y 1,11 mg/mL de cloruro de calcio (0,01 M/L) para evitar que se produjese el precipitado del quelato, el cual se hacía manifiesto al poco tiempo de la preparación de la solución de los dos componentes. Hemos asociado estos dos productos en la proporción 2:1 ya que según NEUVONEN (1976) es la más adecuada. De esta solución se le inyectaba 1 mL/kg de peso vivo (10 mg/kg p.v.) en la vena cutáneo-cubital del ala derecha.

Antes de la administración se canulaba la vena cutáneo-cubital del ala izquierda y se procedía a la extracción de 2 mL de sangre que servía de blanco. Después de la administración del antibiótico se procedía a extraer igualmente 2 mL de sangre a los 5, 10, 15, 20 y 30 minutos y a las 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 y 48 horas de la administración. Estos tiempos eran alternados entre unas y otras gallinas para evitar un descenso excesivo de la volemia. Las muestras de sangre obtenidas con jeringa heparinizada eran inmediatamente centrifugadas a 2000 g durante 15 minutos y seguidamente congelados los plasmas a -20°C hasta el momento de su análisis posterior.

La determinación y cuantificación se realizó como oxitetraciclina por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según el procedimiento descrito por KNOX Y JURAND (1979) y el HPLC BULLETIN 834 DE SUPELCO (1986). Para ello se ha empleado un equipo Spectra-Physics formado por bomba ternaria modelo SP 8800, detector UV de longitud de onda variable Spectra-100 e integrador SP 4400. La columna fue Supelcosil-LC-18-DB con 25 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno cuya fase estacionaria es octadecildimetilsilicona con partículas de 5 micras y poros de 100 .

La preparación de las muestras de plasma para su posterior inyección en el sistema HPLC se realizó como indican McELROY *et al.* (1987), añadiendo 0,25 mL de ácido tricloroacético a 1 mL de plasma y tras agitar fuertemente se mantenía en hielo durante 15 minutos para después centrifugar durante 10 minutos a 2500g. El sobrenadante se filtraba y posteriormente se inyectaba una alícuota de 50 µL. La fase móvil, con un pH ajustado a 3,5 y con un flujo de 1,5 mL/min, estaba compuesta por un 30 por ciento de N,N-dimetil-formamida y un 70 por ciento de tampón formado por ácido cítrico 0,05 M, citrato sódico 0,013 M, nitrato potásico 0,01 M y EDTA disódico 0,001 M. La cuantificación se realizó relacionando las áreas bajo los picos de OTC, leídos a una longitud de onda de 300 nm, con una recta de calibrado que se repetía periódicamente.

El ajuste farmacocinético se realizó por retro-proyección como indican GIBALDI Y PERRIER (1982) a modelos de uno, dos y tres compartimentos abiertos para después utilizar el programa Multi de YAMAOKA *et al.* (1981) con el algoritmo "Damping Gauss-Newton" para los ajustes definitivos. Este programa ofrece los valores del "Akaike's Information Criterion" (AIC) que permite establecer el criterio de selección del modelo farmacocinético (YAMAOKA *et al.*, 1978) y también permite ponderar los resultados de concentración plasmática con respecto a $1/C_p$ en la que C_p es la concentración plasmática y W puede ser 0, 1 ó 2. El programa ha sido modificado al añadirle el cálculo de los porcentajes de error de cada dato y diversos coeficientes de correlación lineal como preconiza WAGNER (1983) y los valores de los

coeficientes de la recta de regresión lineal entre los datos experimentales y los teóricos obtenidos la ecuación de ajuste hallada por el programa.

La selección de la ecuación de mejor ajuste a los datos se hace de acuerdo al valor más bajo del AIC para discernir entre los modelos de uno, dos y tres compartimentos abiertos y por los coeficientes de la recta de regresión para establecer la mejor ponderación en cada caso. En concreto el ajuste es tanto mejor cuanto más próximos a la unidad sean la pendiente de la recta y el coeficiente de correlación lineal y más próximo a cero sea la ordenada en el origen.

Con estos criterios se obtiene la ecuación de mejor ajuste para cada gallina, a partir de la cual se determinan los parámetros farmacocinéticos correspondientes, utilizando, entre otras las siguientes expresiones (GIBALDI Y PERRIER, 1982; ARONSON *et al.*, 1988):

$$V_c = \frac{D}{C(O)} \quad V_z = \frac{D}{\lambda_z AUC} \quad CL = \frac{D}{AUC}$$

$$AUC = \frac{C_1}{\lambda_1} + \frac{C_2}{\lambda_2} + \frac{C_z}{\lambda_z}$$

$$AUMC = \frac{C_1}{\lambda_1^2} + \frac{C_2}{\lambda_2^2} + \frac{C_z}{\lambda_z^2}$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

Con frecuencia, se suelen obtener también los valores medios de concentración plasmática a los diferentes tiempos y después hallar la ecuación de mejor ajuste a estas concentraciones medias. Sin embargo, estimamos que puede ser más adecuado hallar la ecuación que enfrenta todos los datos de concentración-tiempo, como si se tratase de un solo individuo del que se pudieran disponer de diversos valores de concentración a cada tiempo.

RESULTADOS

Los valores de concentración plasmática de OTC se ajustan en todos los casos a un modelo

de tres compartimentos abiertos cuya expresión general es la siguiente:

$$C = C_1 e^{-\lambda_1 t} + C_2 e^{-\lambda_2 t} + C_3 e^{-\lambda_3 t}$$

Esta opción viene avalada por el hecho de que los valores de AIC más bajos correspondieron siempre a los ajustes a este modelo salvo en una ocasión en el que las diferencias fueron tan escasas (20,386 para el bicompartimental frente a 20,480 para el tricompartmental) que pueden considerarse iguales. Con respecto a los valores del exponente al que se eleva la inversa de las concentraciones plasmáticas, que se emplea como factor de ponderación (0, 1 ó 2), se ha encontrado que este exponente es de cero en seis ocasiones y de uno en las cuatro restantes ya que los ajustes a la línea recta con pendiente unidad y partiendo del origen fueron los mejores en estos casos. El cuadro 1 recoge los valores de AIC así como los coeficientes de ajuste más adecuados para cada animal, indicándose también el valor del coeficiente de ponderación.

Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos tras el ajuste a un modelo tricompartmental abierto se recogen en el cuadro 2 en el que se indican también, en la última columna, los parámetros obtenidos tras el ajuste de los datos procedentes de todos los animales a una sola ecuación. En él se observa que los valores son de similar magnitud en ambos casos, si bien los obtenidos a partir de todos los datos son algo inferiores, en general, a los parámetros medios. Las ecuaciones obtenidas son las siguientes:

A partir de los valores medios de los parámetros ($n=10$):

$$C = 98,39 e^{-12,1875t} + 8,40 e^{-0,8467t} + 3,32 e^{-0,0677t} \text{ mg/L}$$

A partir de los datos de todos los animales:

$$C = 60,08 e^{-9,7236t} + 8,79 e^{-0,7836t} + 3,15 e^{-0,0715t} \text{ mg/L}$$

La elección de la curva que mejor se ajusta a los datos de concentración plasmática se ha realizado comparando los valores experimentales con

los teóricos deducidos, a los mismos tiempos, tras aplicar las dos ecuaciones antes citadas. Esta comparación se ha llevado a cabo mediante la determinación de los mejores ajustes a la recta de regresión entre los valores experimentales y los teóricos obtenidos a partir de cada ecuación. En el cuadro 3 se muestran los valores de estos parámetros de ajuste en el que observamos que es mejor para la ecuación obtenida a partir de todos los datos que la encontrada como media de los parámetros farmacocinéticos individuales, ya que en este último caso la pendiente difiere significativamente de la unidad con un nivel superior al 99 por ciento ($p<0,01$). En consecuencia, estimamos que la ecuación que mejor describe la disposición de la OTC administrada en forma de clorhidrato y junto al cloruro de calcio por vía intravenosa en la proporción molar 2:1, es la que se obtiene a partir de todos los datos y no la que se obtiene como valor medio de las ecuaciones individuales de cada gallina. La figura 1 nos muestra la distribución de los puntos experimentales sobre la línea de ajuste correspondiente a todos los datos a escala logarítmica. Los valores de los parámetros farmacocinéticos deducidos a partir de todos los datos de concentración-tiempo se muestran en la última columna del cuadro 2 para poder apreciar las similitudes y diferencias que se producen en ambos procedimientos. En relación a los parámetros farmacocinéticos que se muestran en el citado cuadro 2 hay que hacer mención al hecho de que el volumen de distribución del compartimento central es de magnitud similar, o algo inferior, al agua extracelular, mientras que el volumen de distribución total en función del área bajo la curva es casi tres veces superior al volumen corporal total. Por otro lado, las constantes de transferencia del compartimento central a los compartimentos periféricos son de mayor magnitud que las de retorno desde dichos compartimentos al central y que la de eliminación por lo que los procesos de distribución son fáciles y rápidos. El retorno desde el compartimento periférico más superficial o compartimento 2 es también relativamente fácil y rápido, en tanto que el retorno desde el tercer compartimento o periférico profundo es más lento y difícil. Ello es de suma importancia porque mientras que en el primer caso el retorno es más

N.º	POND.	AIC	CORRELACIÓN	PENDIENTE	ORDENADA
1	1/Cp ⁱ	-14,307	0,9998	0,9996	0,0069
2	1/Cp ⁱⁱ	- 8,576	0,9998	1,00009	0,00096
3	1/Cp ⁱⁱⁱ	- 1,278	0,99996	0,9999	0,00113
4	1/Cp ⁱ	- 8,43	0,9997	0,9998	0,0145
5	1/Cp ⁱⁱ	20,480	0,9989	1,0005	-0,0116
6	1/Cp ⁱⁱⁱ	- 4,144	0,9998	0,99998	0,00012
7	1/Cp ⁱⁱⁱ	- 6,71	0,9994	0,99995	0,00065
8	1/Cp ⁱ	- 2,636	0,9988	1,0002	0,0217
9	1/Cp ⁱⁱ	- 0,570	0,9997	0,9987	0,0188
10	1/Cp ⁱ	- 3,131	0,9998	1,0002	0,0289
(5	biocompart	20,386	0,9984	0,9974	0,0555)

CUADRO 1. Valores del "Akaike's information criterion" (AIC) y de los coeficientes de ajuste lineal y de ponderación de la oxitetraciclina-Ca en gallinas.

PARÁMETRO FARMACOC.	VALOR MEDIO	ERROR ESTÁNDAR	COEFIC. VARIAC.	TODOS LOS DATOS	
C1	mg/L	98,39	28,00	90,00	60,08
λ_1	h-l	12,1875	1,9729	51,19	9,7236
C2	mg/L	8,40	1,01	37,98	8,79
λ_2	h-l	0,8467	0,1367	51,06	0,7836
Cz	mg/L	3,32	0,58	55,12	3,15
λ_z	h-l	0,0677	0,0099	46,38	0,0715
C(O)	mg/L	110,11	28,61	82,15	77,02
Vc	L/kg	0,1345	0,0235	55,19	0,1389
Vz	L/kg	2,7482	0,4077	46,92	2,2759
k12	h-l	6,1380	1,0383	53,50	5,1741
k21	h-l	2,0795	0,2644	40,20	2,1524
k13	h-l	3,0080	0,8820	92,72	1,8643
k31	h-l	0,2238	0,0375	52,92	0,2160
k10	h-l	1,6525	0,3952	75,62	1,1720
$t_{1/2\lambda_1}$	h	0,0750	0,0131	55,36	0,0713
$t_{1/2\lambda_2}$	h	1,0903	0,2071	60,07	0,8846
$t_{1/2\lambda_z}$	h	13,2385	2,4176	57,75	9,6944
AUC	mg*h/L	70,9699	7,7923	34,72	61,4522
MRT	h	13,5547	2,2624	52,78	10,2701
CL	L/kg/h	0,1568	0,0183	36,91	0,1627

CUADRO 2. Valores medios de los parámetros farmacocinéticos de oxitetraciclina-calcio tras la administración intravenosa a gallinas.

PARÁMETRO DE AJUSTE	CURVA MEDIA DE ECUACIONES INDIVIDUALES	CURVA GLOBAL DE TODOS LOS DATOS
Correlación	0,8987	0,9051
Pendiente	0,8809	0,9997
Ordenada	0,6357	0,0141
t Student (pte=1)	2,7000	0,0055
Nivel significación	p<0,01	N.S.

CUADRO 3. Parámetros de ajuste de los datos de concentración plasmática a las ecuaciones triexponenciales correspondientes a la media de las ecuaciones individuales y a la de todos los datos como un único individuo.

rápido que la eliminación, en el segundo caso no lo es por lo que el retorno desde este compartimento profundo se constituye así como factor limitante de la eliminación.

DISCUSIÓN

La distribución de la oxitetraciclina, administrada por vía intravenosa en forma de clorhidrato junto a cloruro de calcio en la proporción molar 2:1, se produce según un modelo de tres compar-

timentos abiertos en la gallina, hecho similar al que se establece para otras especies por diferentes autores como BAGGOT *et al.* (1977) en perros y como XIA *et al.* (1983a,b) en cerdo y vacuno respectivamente, en tanto que en otros trabajos se establecen ajustes bicompartimentales para la OTC. En estudios realizados en aves para la OTC y para otras tetraciclinas se citan ajustes a modelos bicompartimentales por ANADON *et al.* (1985) para la tetraciclina en pollos y por DYER (1988, 1989) que estudia en pavos la farmacoci-

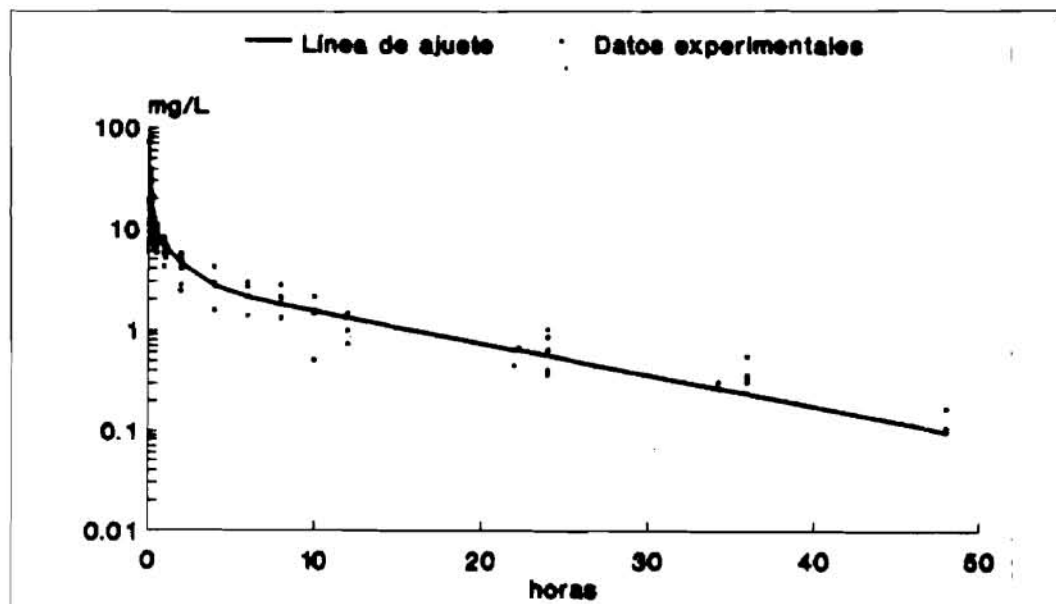


FIGURA 1. Representación de puntos experimentales y de la curva teórica del modelo tricompartmental abierto.

nética de la clortetraciclina y de la OTC respectivamente.

La comparación de algunos de los parámetros farmacocinéticos obtenidos con los indicados por DYER (1989) para la OTC en pavos nos muestran diferencias que pueden ser debidas fundamentalmente a los diferentes modelos utilizados para el ajuste. Así, los valores de los volúmenes de distribución establecidos por este autor son superiores a los aquí indicados. En concreto, el valor de V_c es tres veces superior, en tanto que el de V_z no lo es tanto. Entre otros parámetros importantes, el tiempo de vida media es muy inferior al encontrado en esta experiencia (unos cuarenta y cinco minutos frente a casi diez horas) y de similar magnitud al tiempo de vida media de la segunda fase ($t_{1/2\lambda_2}$) por lo que parece que faltase otra exponencial en las curvas de disposición que aporta este autor. Como consecuencia de la eliminación mucho más rápida y de los volúmenes de distribución más elevados, el aclaramiento que se establece en los pavos es muy superior al de la gallina.

Los valores de los parámetros farmacocinéticos hallados son parecidos a los que establecen BAGGOT *et al.* (1977) en perror y XIA *et al.* (1983a,b) en cerdo y vacuno respectivamente. Estos autores ajustan sus datos a ecuaciones triexponenciales como se ha hecho aquí, por lo que probablemente tenga más importancia el modelo de ajuste que la proximidad filogénica de especie en lo referente a la farmacocinética intravenosa de la OTC.

REFERENCIAS

- ANADON, A., MARTINEZ-LARRAÑAGA, M.R., DIAZ, M.J. 1985. Pharmacokinetics of tetracycline in chickens after intravenous administration. *Poultry Sci.* 64: 2273-2279.
- ARONSON, J.K., DENGLER, H.J., FOLLATH, F. 1988. Standardization of symbols in Clinical Pharmacology. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 35, 1-7.
- BAGGOT, J.D., POWERS, T.E., POWERS, J.D., KOWALSKI, J.J., KERR, K.M. 1977. Pharmacokinetics and dosage of oxytetracycline in dogs. *Res. Vet. Sci.* 24: 77-81.
- DYER, D.C. 1988. Pharmacokinetics of chlortetracycline in the turkey: Evaluation of biliary secretion. *Am. J. Vet. Res.* 49: 36-37.
- DYER, D.C. 1989. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the turkey: Evaluation of biliary and urinary excretion. *Am. J. Vet. Res.* 50: 522-524.
- GIBALDI, M., PERRIER, D. 1982. *Pharmacokinetic*. 2nd ed. Marcel Dekker. New York. pp. 409-424 y 433-441.
- KNOX, J.H., JURAND, J. 1979. Mechanism of reversed-phase separation of tetracyclines by High-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 186: 763-782.
- McELROY, D.E., RAVIS, W.R. and CLARK, C.H. 1987. Pharmacokinetics of oxytetracycline hydrochloride in rabbits. *Am. J. Vet. Res.* 48: 1261-1263.
- NEUVONEN, P.J. 1976. Interactions with the absorptin of tetracyclines. *Drugs* 11: 45-54.
- PRESCOTT, J.F., BAGGOT, J.D. 1991. *Terapéutica antimicrobiana veterinaria: Tetraciclinas*. Acribia.. Zaragoza. pp. 225-239.
- SUPELCO. 1986. Isocratic analysis of tetracycline antibiotics using a Supelcosil LC-18-DB HPLC Bulletin 834.
- WAGNER, J.G. 1983. *Farmacocinética clínica*. Àverté. Barcelona. pp. 291-313.
- XIA, W., GYRD-HANSEN, N., NIELSEN, P. 1983a. Comparison of pharmacokinetics parameters for two oxitetracycline preparations in pigs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 6: 113-120.
- XIA, W., NIELSEN, P., GYRD-HANSEN, N. 1983b. Comparison of pharmacokinetics parameters for two oxytetracycline preparations in cows. *Acta Vet. Scandinavica*. 24: 120-128.
- YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T., UNO, T. 1978. Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 6: 165-175.
- YAMAOKA, K., TANIGAWARA, Y., NAJAGAWA, T., UNO, T. 1981. A pharmacokinetics analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.* 4: 879-885.