

## La bacitracina de cinc ¿afecta al metabolismo proteico de conejas en lactación?

Abecia, L., Balcells, J., Fondevila, M., Belenguer, A., Mota, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza  
Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza. E-mail: balcells@unizar.es

### INTRODUCCIÓN

La bacitracina de cinc es el antibiótico más comúnmente utilizado en patologías digestivas, por ser activa frente a bacterias G+ y por ser escasamente absorbible en el tracto digestivo. Actúa inhibiendo la incorporación de aminoácidos y nucleótidos en la pared celular. Para su actividad, este antibiótico precisa de cationes bivalentes como el cinc.

Existe la hipótesis de que la bacitracina no se limita al control de patógenos intestinales, sino que también puede actuar sobre la cinética de absorción de nutrientes (Abecia *et al.* 2004), dado que en otras especies se ha observado que aquellos animales que la han ingerido presentan un menor grosor de su pared intestinal (King *et al.* 1980), y por tanto pudieran favorecer la absorción de nutrientes

Este trabajo pretende desvelar hasta qué punto la acción de la bacitracina sobre el animal hospedador está mediatizada por un efecto sobre el metabolismo proteico.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 conejas de raza Blanco Neozelandés con un peso vivo medio a la cubrición de  $4,3 \pm 0,42$  kg. Ocho animales fueron alimentados desde cinco días antes del parto con una ración control (C) formulada en base a heno de gramíneas (40 %), trigo (20 %), cebada (13 %), pulpa de remolacha (10 %) y soja (15 %) suministrada "ad libitum". Las ocho conejas restantes recibieron la misma ración suplementada con 100 ppm de bacitracina de cinc (B). Las conejas se distribuyeron al azar entre los diferentes tratamientos experimentales. Tras el parto (24h), se ajustó el número de gazapos de cada camada a 9 y 5, resultando 4 conejas con cada tamaño de camada por dieta. Los gazapos y las conejas se mantuvieron en jaulas separadas, permitiendo un solo contacto al día (entre 9-10 min.) para el amamantamiento. Entre 20 y 25 d tras el parto, las madres se alojaron en jaulas metabólicas que permitían la colección de heces y orina para determinar la excreción urinaria de 3-metil-histidina (3-MH).

El último día del periodo experimental (26 días después del parto), unas dos horas antes del inicio de la infusión se implantó bajo anestesia local (Astra Zeneca Farmaceutico Spain S.A.) un catéter en la arteria auricular [20 G 1 ¼ (1.1 x 32 mm)] y otro en la vena auricular [20 G 1 ¼ (0.9 x 25 mm)], para la infusión y el muestreo, respectivamente.

El ritmo fraccional de síntesis proteica (FSR) se determinó mediante la administración de fenilalanina marcada con deuterio (<sup>2</sup>H<sub>5</sub>-Fenilalanina), que se infundió mezclada (40/60) con el aminoácido (AA) sin marcar, mediante una dosis de inundación (15 veces la cantidad teórica de fenilalanina libre, i.e plasmática). La cantidad de fenilalanina marcada infundida a través del catéter arterial fue de 400 mg por coneja. Diez minutos antes del inicio de la infusión se tomaron muestras a través del catéter endovenoso para determinar el enriquecimiento basal (natural) y, tras la infusión, el muestreo plasmático se repitió a los 12, 15, 20, 25, 30 y 40 min. Finalizado el muestreo se tomó una muestra de leche de las conejas, que se sacrificaron a continuación mediante una inyección letal (Thiopental, B Braun Medical S.A.). Tras el sacrificio, se procedió al muestreo (2-3 g de tejido) de duodeno, hígado, glándula mamaria y músculo semi-tendinoso.

Para la determinación del enriquecimiento plasmático, la sangre fue centrifugada y el plasma desproteinizado con ácido tricloroacético y desalinizado por cromatografía de intercambio iónico en una resina AG 50W-X8 H+ (Bio-Rad, Hercules, USA). Después, los aminoácidos fueron eluidos con NH<sub>4</sub>OH 2M, congelados y liofilizados. Las muestras preparadas de tejido y plasma fueron analizadas según fue descrito por Belenguer *et al.* (2004).

El ritmo fraccional de síntesis proteica, se determinó a partir de los enriquecimientos calculados (S) de la fenilalanina libre (Sa) y la conjugada (Sb),  $[FSR (\%/d) = (Sb/Sa) \times S]$

(100xt)]. La tasa fraccional de degradación de la proteína en músculo (FDRms) se calculó a partir de la excreción de 3-MH y su concentración en músculo, asumiendo que la reutilización de 3-MH es nula [FDR = 3-MH (mg/d) x (3-MH mg/g músculo)].

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SAS versión 8 (Institute Inc. Cary, NC USA) considerando un diseño factorial 2 x 2 para los efectos ración (B vs C) y tamaño de camada (5 vs 9).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron dificultades en los animales ni en la adaptación a la ración ni en las modificaciones en el tamaño de camada. En la Tabla 1 se presenta la ingestión de MS, producción de leche, peso vivo así como los cambios de peso de las conejas registrados en el periodo previo a su sacrificio (del día 17 al 24 post-parto).

**Tabla 1:** Ingestión de materia seca (g/d), producción de leche (g/d), peso vivo al sacrificio y cambios de peso vivo (g/d) de las conejas en el periodo previo al sacrificio (media de días 17 al 24).

Tratamiento	C 9	C 5	B 9	B 5	ES	C vs B	9 vs 5	Interacc
<b>Ingestión MS</b>	277,6	291,1	313,5	280,6	16,9	NS	0,09	NS
<b>Producción de leche</b>	219,5	194,4	215,1	177,0	10,2	NS	0,01	NS
<b>Peso vivo</b>	4092,5	4052,3	3924,8	3970,4	44,5	NS	NS	NS
<b>Cambios de peso</b>	-3,6	-1,1	-13,4	-20,6	51,1	NS	NS	NS

Las conejas con mayor tamaño de camada produjeron más leche (217 vs 185 g/d;  $P < 0,01$ ), pero ello no se reflejó ni en diferencias en el consumo de alimento (290 g/d;  $P > 0,05$ ) ni en la movilización de reservas corporales, aunque en este parámetro la variabilidad fue muy elevada ( $CV = 0,37$ ). El consumo de antibiótico no modificó ninguno de estos parámetros.

En la Tabla 2 se presentan las tasas fraccionales de síntesis proteica obtenidas en los diferentes tejidos, estimadas a partir de la incorporación de fenilalanina marcada. Las mayores tasas fraccionales de síntesis se registraron en la mucosa intestinal [duodenal,  $51,7 \pm 1,47 \% d^{-1}$ ], seguidas por las de la glándula mamaria y el hígado, que mostraron tasas similares [ $38,29 \pm 1,85 \% d^{-1}$  y  $40,2 \pm 1,85 \% d^{-1}$ , respectivamente], correspondiendo los menores valores al tejido muscular [ $2,92 \pm 0,19 \% d^{-1}$ ]. Estas diferencias entre tejidos, excluyendo la glándula mamaria, coinciden con el gradiente propuesto por Simon *et al* (1982) en cerdos de 50 kg, aunque Loble *et al* (1980) obtuvieron en vacuno tasas superiores en el tejido muscular (de 14 a 17  $\% d^{-1}$ ) que en el hepático (de 5 a 8  $\% d^{-1}$ ).

Las bajas tasas fraccionales de síntesis en tejido muscular obtenidas en conejas en lactación en relación a los valores relativos obtenidos en otras especies pueden responder a una reducción del ritmo de síntesis para cubrir las elevadas necesidades de la coneja en esta fase fisiológica.

No se dispone de datos publicados relativos al ritmo de síntesis y/o degradación en conejos ingiriendo bacitracina, aunque las tasas registradas en animales adultos en condiciones de mantenimiento y mediante la incorporación de  $^{14}C$  tirosina son del mismo orden (Nicholas *et al*. 1977) tanto en tejido muscular (2  $\% d^{-1}$ ) como hepático (3  $\% d^{-1}$ ).

La ingestión de bacitracina no modificó las tasas de síntesis proteica en hígado, músculo o intestino. No obstante, a nivel de glándula mamaria, las conejas que ingirieron el antibiótico presentaron una menor tasa de incorporación del isótopo o una menor tasa fraccional de síntesis proteica ( $43,2$  vs  $33,2 \pm 1,45 \% d^{-1}$ ;  $P < 0,02$ ). Por otra parte, el tamaño de camada no alteró los procesos de síntesis en la mama pero las conejas con mayor número de gazapos

mostraron una menor incorporación del isótopo a nivel duodenal (56,0 vs 47,4 ± 1,85, P> 0,017). Estas diferencias registradas en el ritmo de incorporación del isótopo no se reflejaron ni en una mayor producción de leche ni en un consumo más eficiente.

**Tabla 2:** Ritmo fraccional de síntesis (FSR) en hígado, duodeno, glándula mamaria y músculo junto con los ritmos de degradación muscular (FDR) y de renovación muscular (% diario) en conejas a los 26 días de lactación alimentadas con una dieta convencional suplementada (B) o no (C) con bacitracina de cinc y amamantando 5 ó 9 gazapos.

FSR (%/d)	C 5	C 9	B 5	B 9	ES	C vs B	5 vs 9	Interacc.
<b>Hígado</b>	39,45	40,29	40,15	41,14	1,40	NS	NS	NS
<b>Duodeno</b>	58,45a	45,09b	53,55a	49,73b	1,47	NS	0,02	NS
<b>Glándula mamaria</b>	46,48a	40,09a	32,83b	33,76b	1,85	0,025	NS	NS
<b>Músculo</b>	3,14	2,62	3,22	2,75	0,19	NS	NS	NS
<b>FDR (%/d)</b>								
<b>Músculo</b>	2,19	1,94	2,25	2,64	0,08	NS	NS	NS
<b>Renovación (%/d)</b>	0,88	0,911	0,64	0,23	0,44	NS	NS	NS

En la Tabla 2 se presenta también el ritmo de degradación muscular determinado a partir de la excreción de 3-MH, asumiendo que la mayor parte de este compuesto se halla en el músculo en una concentración de 0,814 ± 0,017 µmol/g (Harris *et al.* 1977). El músculo se degradó, en conejas en lactación, a una menor tasa (2,25 ± 0,08 %/d) que sus síntesis (2,93 ± 0,19%/d) con lo cual el ritmo de renovación resultó en una síntesis neta de proteína (0,66±0,44 %/d). Tanto los ritmos de síntesis como los de degradación en esta fase fisiológica fueron superiores a los determinados en conejos adultos en mantenimiento (Ks = 1,31 y Kd = 1,45 % d<sup>-1</sup>, Harris *et al.* 1977) y en ningún caso fueron modificados por el tratamiento experimental.

La ingestión de bacitracina no alteró las tasas de síntesis proteica ni a nivel muscular ni hepático. Tampoco se apreciaron alteraciones en el metabolismo muscular, y sólo se observó una mayor actividad sintética en la mama inducida por la ingestión de este compuesto.

#### AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el proyecto DGA PM 095/2006. Los análisis isotópicos fueron realizados en el laboratorio de isótopos estables del Rowett Research Institute, financiados por el programa Marie Curie (MASS School Programme). L. Abecia disfrutó una beca para formación de investigadores del Gobierno Vasco.

#### REFERENCIAS

- Abecia, L., Balcells, J., Fondevila, M., Belenguer, A., Calleja, L. 2004. *Anim. Res.* 54, 307-314.
- Belenguer, A., Balcells, J., Guada, J.A., Decoux, M., Milne, E. 2004. *Br J Nutr.* 94, 1-9.
- Harris, C.I., Milne, G., Lobley, G.E., Nicholas, G.A. 1977 *Biochem Soc T.* 5, 706-708.
- King, J. O. L. 1980. *Br. Vet. Sci.* 136, 240-248.
- Lobley, G.E. Milne, V.;Lovie, J.M., Redes, 1980. *Br. J. Nutr* 43, 491-502.
- Nicholas, G.A., Lobley, G.E., Harris, C.I. 1977. *Br. J. Nutr.* 38,1-17.
- Simon, O., Bergner, H., Munchmeyer, 1982. *Br. J. Nutr.* 48, 571-582.