



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE IVERMECTINA ADMINISTRADA VÍA ORAL
EN PERROS ADULTOS.**

Gonzalo Alonso Muñoz Canales

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: Dra. Daniela Iragüen C.

Departamento de Ciencias Clínicas

Profesora Asistente

SANTIAGO, CHILE

2013



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE IVERMECTINA ADMINISTRADA VÍA ORAL
EN PERROS ADULTOS.**

Gonzalo Alonso Muñoz Canales

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento Ciencias Clínicas

NOTA FINAL.....

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA:	DRA. DANIELA IRAGÜEN C.
PROFESOR CONSEJERO:	DRA. SONIA ANTICEVIC C.
PROFESOR CONSEJERO:	DRA. GALIA RAMÍREZ P.

SANTIAGO, CHILE

2013

Agradecimientos

Agradezco a mi familia todo el apoyo, paciencia, perseverancia y confianza que depositaron en mí, espero no haberlos defraudado. Principalmente a mis viejos, Juan y Margarita, que aún conociendo la realidad laboral actual de los veterinarios, vieron en mi el deseo puro de darles bienestar a los animales, y lo respetaron y apoyaron como si fuera propio. Por todo el amor que me demostraron de pequeño con todos y cada uno de los animales que participaron de nuestra vida, por mostrarme el respeto por el prójimo y por el medio ambiente. A mis hermanos Masiel y Juanja, los que vivieron y aguantaron conmigo todo el rigor del estudio universitario, los traspasos, el cansancio y también pudieron compartir mis alegrías académicas. A todas nuestras mascotas que fueron un motor de inspiración constante, una fuente inagotable de amor que me hizo sentir siempre que tenía que dar más. En especial al Wiky y al Nico, los que ya han partido, los extraño mucho.

Al resto de la familia, gracias por acompañarme y protegerme todo este tiempo. A mis amigos, especialmente a Sergio, Víctor, Álvaro, Francisco y Alejandro, quienes forman parte de mi familia también. A todo el personal de la Clínica Bon Amie, en especial a la Dra. Ingrid, a la Dra. Paty y a la Dra. Kitty, quienes fueron parte de mi crecimiento profesional y académico, porque me brindaron un lugar donde aprender y desarrollarme, me enseñaron desinteresadamente, y compartieron conmigo su experiencia.

A mis compañeros de carrera, quienes saben lo importante y difícil que fue este proceso, donde muchos se convirtieron en grandes amigos, y en parte de ese grupo de estudio y de vida universitaria, a Giancarlo, Ely, Leo, Fran, Dani, Rafael, Mauricio, Miguel, Pablo, Raúl, Mario, Felipe, y muchos otros con quienes compartí durante la carrera.

Por último, quiero agradecer a María Olga, una gran mujer que cambió mi vida, que participó en cada etapa de este proceso de manera fundamental, quien pasó de ser compañera de carrera a amiga, confidente, pareja, colega, y lo más importante, mi esposa. Te estaré agradecido eternamente.

MEMORIA DE TITULO

“ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE IVERMECTINA ADMINISTRADA VÍA ORAL EN PERROS ADULTOS”.

Gonzalo Muñoz Canales*

** Unidad de Farmacología Veterinaria, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.*

Actualmente, el tratamiento de elección para la demodicosis canina generalizada (DCG) es ivermectina (IVM) 1% en dosis de 600 µg/Kg pv/día vía oral. Sin embargo, la aparición de signos de toxicidad y el uso extraetiqueta de este fármaco en perros, sugieren la necesidad de disminuir la dosis pero manteniendo la eficacia de la terapia. El objetivo de este estudio fue describir los parámetros farmacocinéticos de IVM en dosis única de 400 µg/Kg pv, vía oral en perros. Se utilizaron 4 perros de 28,75 ± 8,9 kg de peso (promedio ± DE). Se obtuvieron muestras de sangre pre y post tratamiento hasta el día 40. IVM fue cuantificada a partir de plasma, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento con detección de fluorescencia (HPLC-FLUOR). La concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) fue de 184,95 ± 23,1 ng/ml y se obtuvo en un tiempo ($T_{m\acute{a}x}$) de 6,48 ± 3,8 hrs. (0,27 ± 0,16 días). La constante de eliminación (λ) y la vida media de eliminación ($T_{1/2}$) fueron de 0,138 ± 0,037 y 5,344 ± 1,704 días, respectivamente. El área bajo la curva final (ABC_{final}) obtenida fue de 359,67 ± 80,388 ng/día/ml y el ABC_{∞} (área bajo la curva hasta el infinito) fue 410,04 ± 126,725 ng/día/ml. El clearance (CL) fue de 1,042 ± 0,290 ml/kg/día y el volumen de distribución fue de 7,675 ± 1,671 Lt/kg. Ningún individuo tratado presentó signos de toxicidad durante el estudio. Estos resultados sugieren que una dosis de 400 µg/Kg es segura de utilizar, pero debe ser analizada en forma conjunta con estudios de eficacia clínica para ser propuesto como una alternativa terapéutica segura contra la demodicosis canina.

Palabras Claves: Ivermectina, farmacocinética, demodicosis generalizada canina, HPLC-FLUOR.

Ivermectin (IVM) is extra-label used for the treatment of generalized canine demodicosis (GCD) and prescribed in a concentration of 1% in dose of 600µg/Kg, orally daily. However, signs of toxicity have been found and it is imperative to find an effective but also safe dose, for the therapeutic use in dogs. The main objective of this study was to determine and to describe the plasma disposition kinetics of IVM administered orally in an only dose of 400 µg/Kg of bodyweight in dogs. Here, 4 dogs of 28.75 ± 8.9 Kg of bodyweight were used (mean ± SD). Blood samples were collected before and until 40 days after IVM administration. Plasma was analyzed by high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLUOR). Data obtained are shown as mean ± standard deviation (SD). The maximum concentration found ($C_{m\acute{a}x}$) was 184.95 ± 23.1 ng/ml and was obtained at ($T_{m\acute{a}x}$) 6,48 ± 3,8 hours (0,27 ± 0,16 days); the elimination constant (λ) and the elimination half-life ($T_{1/2}$) were 0,138 ± 0,037 and 5,344 ± 1,704 days, respectively. The area under the plasma concentration time curve (AUC final) obtained was 359,67 ± 80,388 ng/day/ml and the area under the curve to infinity (AUC ∞) obtained was 410,04 ± 126,725 ng/day/ml. The clearance (CL) was 1,042 ± 0,290 ml/kg/day and the volume of distribution (VD) was 7,675 ± 1,671 Lt/kg. During the entire essay, there were no signs of toxicity in all treated dogs. Such findings suggest that an only oral dose of 400 µg/Kg of Ivermectin is safe to use, but more studies are required to evaluate the clinical efficacy, to propose this therapeutic approach against canine demodicosis.

Key Words: Ivermectin, Pharmacokinetics, HPLC-FLUOR.

Introducción

La ivermectina (IVM) es un antiparasitario perteneciente a la familia de las lactonas macrocíclicas, generada a partir de la fermentación del *Streptomyces avermitilis* (Mueller y Bettenay, 1999) y está compuesta por una mezcla de dos ivermectinas modificadas químicamente (González *et al.*, 2009). El mecanismo de acción de la IVM involucra su unión selectiva a receptores de neurotransmisores que participan en las sinapsis de neuronas motoras periféricas de los parásitos. Específicamente, la IVM bloquea la transmisión química de las neuronas que presentan canales de cloro (Cl⁻) sensibles a glutamato (glu) y ácido gamma aminobutírico (GABA), generando hiperpolarización de las neuronas. Esto produce el cese de la conducción del impulso nervioso, parálisis y finalmente la muerte del parásito (Dourmishev *et al.*, 2005).

Actúa sobre un amplio espectro de nemátodos gastrointestinales y pulmonares, incluyendo la mayoría de las formas adultas y larvianas. También es efectiva frente a ácaros, garrapatas, moscas y larvas de dípteros, que afectan a animales productivos y de compañía. Específicamente en perros, el espectro de acción incluye *Dirofilaria immitis*, *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala* y *Trichuris vulpis*; y artrópodos tales como *Sarcoptes scabiei* y *Otodectes cynotis* (González *et al.*, 2009; Paterson *et al.*, 2009; Kaya *et al.*, 2010; Snyder *et al.*, 2011).

En mamíferos, la terapia con IVM es bien tolerada ya que la ubicación de los canales iónicos asociados a Glu y los canales de Cl⁻ asociados a GABA está restringida al sistema nervioso central (SNC). La IVM es incapaz de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), gracias a la presencia de la glicoproteína P (P-gp), que actúa como bomba de eflujo en la membrana de las células endoteliales de los capilares cerebrales, determinando qué sustancias se transportarán, incluyendo la IVM (Mueller y Bettenay, 1999).

IVM puede ser administrada por vía oral (p.o.), parenteral o tópica dependiendo de la especie y formulación utilizada. El comportamiento farmacocinético de la IVM, cuando se administra vía subcutánea (s.c.) y tópica, se caracteriza por tener un proceso de absorción más lento que p.o. (Gokbulut *et al.*, 2006). Es altamente lipofílica, distribuyéndose ampliamente a tejidos periféricos. Asimismo, al ser administrada p.o. cruza la capa lipídica de la membrana celular de los enterocitos alcanzando una alta biodisponibilidad, aunque menor en comparación a la administración s.c. La IVM se une a las albúminas plasmáticas y lipoproteínas, siendo un factor a considerar en animales desnutridos o con enfermedades que cursen con disminución de las proteínas plasmáticas. La alta lipofilia del fármaco facilita el depósito en tejido graso pudiendo actuar como reservorio. La biotransformación es escasa y es eliminada principalmente por vía hepatobiliar. La excreción renal es inferior al 2%. La excreción es lenta, por lo que la permanencia de la droga en el organismo supera los 30 días post-administración (Pérez *et al.*, 2002; Dourmishev

et al., 2005; González *et al.*, 2009; Telting, 2010). Fink y Porras (1989) observaron que después de la administración p.o. de IVM formulada en tabletas para perros en dosis única de 100 µg/kg de peso vivo (p.v.), la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) en sangre alcanza los 40 ng/ml y se obtiene entre las dos y cuatro horas para luego decaer. González *et al.* (2009) describieron un aumento proporcional entre la concentración plasmática, $C_{m\acute{a}x}$ y el área bajo la curva (ABC) de la IVM, con la magnitud de la dosis administrada. Al mismo tiempo, la cinética varía dependiendo de factores como la formulación farmacéutica, ruta de administración, especie animal, condición corporal, edad y estado fisiológico.

En Chile, la IVM está registrada para ser administrada vía tópica, p.o., y s.c. en especies de abasto. En perros, sólo está autorizada una formulación en tabletas para la prevención de la dirofilariasis (SAG, 2012a). Sin embargo, en esta formulación la dosis de IVM es 100 veces menor que la recomendada para el tratamiento de la demodicosis (Mueller, 2004). Esta situación conlleva a que el médico veterinario deba utilizar este fármaco *extraetiqueta*, es decir, en dosis, vía de administración, ritmo horario o especie no señaladas en el registro del medicamento (SAG, 2012 b).

Actualmente, el tratamiento de elección para la demodicosis canina generalizada (DCG), es IVM, pero el esquema terapéutico no está del todo definido. Por una parte, se recomienda la administración de IVM en dosis de 200 a 400 µg/kg de peso (p.v.) una vez por semana vía s.c. Por otra, diversos estudios recopilados por Mueller (2004), recomiendan también la dosis de 300 a 600 µg/kg/día de IVM administrada p.o., siendo la administración de 600 µg/kg/día la que ha demostrado tener mejores resultados de eficacia clínica (Castro, 2011). Sin embargo, al ser utilizada en forma *extraetiqueta*, expone a los perros a sufrir reacciones adversas ya que la cinética de IVM en perros no está del todo descrita cuando se administra p.o. El tratamiento puede ser altamente efectivo, no obstante podría generar efectos adversos en los pacientes tratados con IVM. Moreno (2009) evaluó la eficacia clínica de la terapia con IVM en dosis de 600 µg/kg/día evidenciando alta eficacia clínica (cura parasitológica entre las 16 y 36 semanas), pero 1 de los 10 perros (10%) fue retirado del estudio, porque presentó reacciones adversas al tratamiento.

La IVM puede causar toxicidad neurológica en algunos perros, siendo algunas razas más susceptibles. Entre ellas destacan: Border Collie, Collie, Pastor Inglés, Galgo, Pastor Ovejero de Shetland, Pastor Australiano, Pastor Australiano miniatura, Waeller (raza alemana) y el Pastor blanco suizo (Gramer *et al.*, 2011).

La toxicidad por IVM en dosis única de 200 a 250 µg/kg p.v. ha sido reportada en las razas Collie, Pastor Australiano y Pastor Inglés, y se sugiere una relación directa entre la dosis y la severidad de los signos de neurotoxicidad (Mueller y Bettenay, 1999). Los signos que pueden

presentarse en perros después de la administración de IVM son hipersalivación, midriasis, ataxia, depresión, ceguera, coma y muerte (Gokbulut *et al.*, 2006; González *et al.*, 2009).

Se ha descrito una mutación en el gen MDR1 (“multidrug resistance”), que produce un codón de corte prematuro, impidiendo la síntesis del producto proteínico completo, la P-gp, que determinaría la sensibilidad a la IVM en las razas susceptibles (Mealey *et al.*, 2005). Actualmente, el gen MDR1 es conocido también como ABC1B1 (Mueller *et al.*, 2011). Los perros portadores de los dos alelos mutantes que expresan el fenotipo sensible a la IVM, son susceptibles a la toxicidad causada por otros substratos de P-gp (Mealey *et al.*, 2005), como loperamida, digoxina, ondansetrón, ketoconazol, ciclosporina A, antihistamínicos, esteroides, morfina, vincristina, vinblastina y doxorubicina y potencialmente otros macrólidos antihelmínticos. En estudios genéticos se ha documentado un 30% de homocigotos recesivos en la raza Collie y un 40% de heterocigotos, siendo la raza más susceptible. Por otra parte, perros heterocigotos también podrían presentar toxicidad en tratamientos diarios prolongados (Dowling, 2006).

Sin embargo, la formulación, dosis, vía de administración y variación interespecífica pueden afectar fuertemente los parámetros farmacocinéticos de la droga (Gokbulut *et al.*, 2006; González *et al.*, 2009). Por esto, con el fin de darle un uso responsable a esta droga cuando se utiliza de manera extraetiqueta, se requiere conocer la farmacocinética en las especies animales de destino, aun cuando éstas no estén señaladas en las condiciones de registro. Esta información ayudará a optimizar su eficacia y seguridad clínica. Por otro lado, la caracterización cinética de la IVM puede ser usada para predecir y optimizar el valor de los efectos parasiticidas, y para diseñar programas de control parasitario en la población de perros del país (Telting, 2010).

El objetivo de esta investigación fue describir la cinética de la IVM oral en dosis única de 400 µg/kg p.v. en perros, para contribuir al diseño de terapias más seguras y eficaces, ya que al disminuir la dosis de IVM en un esquema extraetiqueta, disminuye el riesgo que los animales presenten reacciones adversas al medicamento (RAM).

Material y Métodos

Este estudio contó con la aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET), Universidad de Chile (Anexo N° 1).

Animales experimentales

Se utilizaron 4 perros adultos, de 2 a 7 años de edad y peso entre 20 y 40 kg p.v. Los perros no recibieron tratamiento con lactonas macrocíclicas 40 días antes del inicio del estudio, lo que fue confirmado por análisis cromatográfico (HPLC-FLUOR) de las muestras de plasma de cada perro. Los animales no presentaron alteraciones al perfil bioquímico y hemograma. No se incluyeron perros de razas reconocidas como susceptibles o cualquiera de sus cruza. Los propietarios fueron informados y accedieron voluntariamente a facilitar sus mascotas para el estudio, mediante una carta de compromiso y consentimiento (Anexo 2 y 3 respectivamente).

Los perros fueron trasladados a una clínica particular 24 horas antes de la administración del tratamiento para su ambientación. Fueron ubicados en caniles individuales y permanecieron en la clínica por cuatro días. Recibieron alimento extruido comercial dos veces al día y se les ofreció agua de bebida *ad libitum*. Además, fueron monitoreados constantemente durante su estadía en la clínica por un médico veterinario.

Administración del tratamiento y obtención de muestras

Se obtuvo una muestra de sangre de cada animal previo a la administración de IVM (T_0) para verificar la ausencia del antiparasitario. Luego de un ayuno de cuatro horas, cada perro recibió una dosis única de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v., p.o. de IVM 1% (Ivomec[®], Merial) y fueron alimentados nuevamente cuatro horas posterior a la administración.

Se obtuvieron muestras de sangre (10 ml por punción) a las 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48 horas y luego a los 3, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 días, utilizando bránula (BD, 21G 1,5") para evitar punciones innecesarias los primeros 4 días y luego punción directa de la vena cefálica con jeringas desechables estériles (BD, 10 ml, 1,5"). Las muestras fueron traspasadas a tubos con heparina sódica (BD, 10 ml, Vacutainer[®]). El plasma se separó mediante centrifugación (L.W.Scientific[®], Estados Unidos de América (USA)) durante 20 minutos a 1500g y se mantuvieron congeladas a -20°C para el traslado al Laboratorio de Farmacología Veterinaria de FAVET, Universidad de Chile, donde fueron almacenadas a -80°C hasta el análisis cromatográfico.

Los animales fueron monitoreados durante todo el estudio por un médico veterinario, con el objeto de retirar del estudio todo ejemplar que presentara signología clínica relacionada o no con el fármaco administrado y prestarle la atención médica necesaria.

Procedimiento analítico

Se realizó en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria de FAVET, Universidad de Chile.

La detección de la IVM en plasma se realizó a través de un procedimiento de extracción en fase sólida. El proceso de extracción se realizó acorde al método descrito por Gokbulut *et al.*, (2006) y validado por Telting (2010). Se agregó 1 ml de acetonitrilo (Fisher Scientific[®]) a 1 ml de plasma fortificado (plasma de perro con concentraciones conocidas de IVM, para realizar una curva estándar o de calibración, que será explicada más adelante). Luego se agregaron 5 ml de cloroformo (Merck[®]) y se centrifugó a 5000g durante 20 minutos retirando el sobrenadante. La fase orgánica (3 ml) se transfirió a un tubo de vidrio y se evaporó a 45°C bajo flujo de nitrógeno. Posteriormente, se derivatizó con una solución de Metilimidazol: anhídridoacético: dimetilformamida (2:6:9) (Merck[®]) para luego incubar las muestras a 90°C en una estufa de cultivo (Mettler[®]) durante una hora. Finalmente, las muestras fueron reconstituidas con cloroformo para la extracción en fase sólida (Sílica 500 mg, Sep-Pak[®] Vac, Waters[®]). Las muestras nuevamente se evaporaron y se reconstituyeron con 300 µl de metanol (Merck[®]).

Condiciones cromatográficas:

Las muestras fueron analizadas mediante la técnica cromatográfica líquida de alto rendimiento con detección de fluorescencia (HPLC-FLUOR), compuesto por una bomba (515, Waters[®], USA), un inyector automático (717, Waters[®], Milford) y un detector de fluorescencia (2475, Waters[®], USA). Los datos obtenidos fueron procesados en un software especializado (CSW32 Chromatography Station Properties, Versión 1.4.11.77). Para la separación cromatográfica, se utilizó una columna analítica comercial (C-18 Simmetry 250 mm x 4,6 mm x 5 µm, Waters[®]).

Cuantificación de IVM en Plasma:

Para la elaboración de las curvas de calibración con las que se cuantificaron las muestras experimentales, se utilizó plasma de perros controles, que no recibieron tratamiento con este antiparasitario o con cualquier lactona macrocíclica por al menos 40 días previos a la obtención de la muestra y que fueron confirmadas por HPLC-FLUOR.

Se utilizó un estándar de IVM de 96% de pureza (Sigma[®]) con el que se preparó una solución madre de 1 mg/ml de concentración. A partir de ésta, se prepararon soluciones de IVM en metanol a diluciones necesarias para obtener plasma fortificado con concentraciones de 0,5; 1; 5; 10; 20; 40; 80 y 100 ng/ml.

La cuantificación de IVM en las muestras de plasma de perro se realizó mediante curvas de calibración aplicando la siguiente fórmula:

$$\underline{\text{Concentración}} = \frac{(a - y)}{b}$$

Donde **a** corresponde al área cromatográfica de la muestra; **y** corresponde al intercepto en el eje y de la curva de calibración; **b** corresponde a la pendiente de la misma curva.

Cálculo de los parámetros farmacocinéticos:

Una vez obtenidas las concentraciones de IVM de cada individuo a través del tiempo se realizó el cálculo de los parámetros farmacocinéticos según lo descrito por Schwartz y Pateman (2004).

Concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y Tiempo máximo ($T_{m\acute{a}x}$): Se obtuvieron directamente de la observación de las curvas tiempo-concentración.

Constante de eliminación (λ_z): Se estimó a través de una regresión lineal de la concentración transformada a logaritmo en base 10 en relación al tiempo:

$$\lambda_z = \text{pendiente} \times -2,303$$

Donde *pendiente* corresponde a la pendiente de la fase de eliminación terminal de la curva tiempo v/s concentración, y 2,303 a una constante.

Vida media de eliminación ($T_{1/2}$): Se calculó a través de la fórmula:

$$T_{1/2} = \frac{\text{Ln}2}{\lambda_z},$$

Donde Ln2 equivale a 0,693.

Área bajo la curva final (ABC_{final}): Se calculó por regla trapezoidal lineal, desde el tiempo 0 (t_0) hasta el tiempo donde se encuentra la última concentración cuantificable.

Extrapolación ABC_{final} desde el tiempo cero al infinito (ABC_{∞}): Se obtuvo a partir de la fórmula:

$$ABC_{\infty} = ABC_{final} + \frac{C_{final}}{\lambda_z},$$

Donde C_{final} es la última concentración cuantificable observada.

Clearance (CL): Se calculó con la fórmula:

$$CL = \frac{\text{Dosis}}{ABC_{\infty}} \quad \text{ó} \quad \frac{0,693 \times V}{T_{1/2}}$$

Volumen de distribución: Se calculó:

$$V_d = \frac{CL}{\lambda_z}$$

Análisis de datos:

Se calcularon los parámetros farmacocinéticos para cada animal. La descripción farmacocinética de la IVM administrada p.o. en dosis de 400 µg/Kg p.v. se expresó como promedios y sus desviaciones estándar.

Resultados

Este estudio evaluó el comportamiento farmacocinético de la IVM en dosis de 400 µg/kg p.v. vía p.o. en perros. Se utilizaron cuatro perros adultos sanos, mestizos, sin distinción de sexo. Se encontró una alta variabilidad en la respuesta de los individuos frente a la administración del fármaco.

No se observaron reacciones adversas en los animales experimentales durante el estudio.

Las concentraciones de IVM detectadas, en cada animal incluido en el estudio, se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de IVM en plasma (ng/ml), obtenidas de cuatro perros tratados con una dosis de 400 µg/Kg p.v. de IVM 1%. p.o.

Día de muestreo	Concentraciones de IVM (ng/ml)			
	Perro 1	Perro 2	Perro 3	Perro 4
0	0	0	0	0
0,04	112,9	174,5	114,7	127,9
0,08	153,2	130,7	139,3	121,2
0,16	214,9	174,7	156,9	188,7
0,25	205,8	111,5	160,9	182,5
0,33	179,8	144,2	126,7	165,6
0,5	180,7	123,4	128,3	189,2
0,66	177,6	45,6	142,9	146,1
1	115,2	79,7	53,6	87,9
1,5	90,6	71,7	55,8	93,8
2	74,3	56,4	36,4	76,0
3	51,8	36,3	26,1	63,2
4	14,4	11,8	17,2	22,5
6	8,5	6,0	9,3	16,2
9	5,8	3,8	8,5	11,5
12	ND	2,4	5,8	11,1
15	ND	ND	3,6	ND
20	ND	ND	ND	ND
25	ND	ND	ND	ND
30	ND	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND
40	ND	ND	ND	ND

ND: no detectado.

La IVM fue detectada desde la primera hora hasta 9 días post-administración en todos los individuos. En el individuo n°3 se detectó hasta el día 15. La $C_{m\acute{a}x}$ para todos los individuos se evidenció entre los 0,16 y 0,5 días post-administración, con valores que fluctuaron entre 160,9 ng/ml y 214,9 ng/ml.

En la figura n°1 se grafican las concentraciones plasmáticas promedio con sus desviaciones estándar de IVM para cada individuo en el tiempo. La IVM presenta una rápida absorción, alcanzando $C_{m\acute{a}x}$ en pocas horas, para en una primera etapa decaer exponencialmente (24-36 horas apróx.), y luego disminuir la concentración plasmática a menor velocidad. La última concentración plasmática fue detectada a los 15 días post-administración, en el individuo n°3.

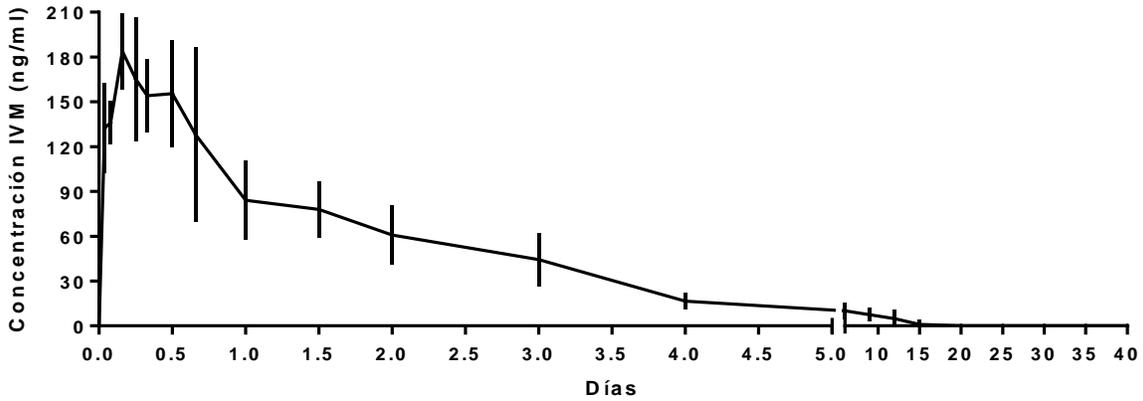


Figura 1. Concentraciones plasmáticas (promedio \pm D.E) de IVM 1% (ng/ml) obtenidas post administración en dosis única de 400 μ g/Kg p.v. p.o., en cuatro perros.

En la Tabla 2 se presentan los parámetros farmacocinéticos para IVM administrada p.o. en dosis de 400 μ g/kg p.v., para los 4 perros incluidos en el estudio. Los resultados son expresados como promedios \pm desviación estándar.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos (promedio \pm DE) para cada perro tratado con IVM en dosis única de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.v. p.o.

Parámetros Farmacocinéticos	Promedio \pm DE
$C_{\text{máx.}}$ (ng/ml)	184,95 \pm 23,1
$T_{\text{máx.}}$ (días)	0,27 \pm 0,16
λ_z (/días)	0,138 \pm 0,037
$T_{1/2}$ (días)	5,344 \pm 1,704
ABC_{final} (ng/dl/ml)	359,67 \pm 80,388
ABC_{∞} (ng/dl/ml)	410,04 \pm 126,725
CL (ml/Kg/día)	1,042 \pm 0,290
V_d (L/Kg)	7,675 \pm 1,671

Discusión

En perros existen estudios farmacocinéticos de IVM, comparando vías de administración (Gokbulut *et al.*, 2006; Telting, 2010), dosis, (Clark *et al.*, 2004; Al-Azzam *et al.*, 2007) e incluso comparando la cinética de diferentes formulaciones inyectables (Eraslan *et al.*, 2010). Sin embargo, no se había estudiado previamente la farmacocinética de la administración oral de 400 µg/kg p.v. en dosis única.

En Chile la IVM no se encuentra registrada para su utilización como tratamiento de DCG, y por lo tanto es de uso *extraetiqueta* en perros, existiendo un riesgo en la dosis administrada (100 veces mayor a la registrada para perros), ya sea en individuos con expresión normal de la P-gp, como también en aquellas razas genéticamente sensibles a la droga. Por todo esto es importante realizar estudios farmacocinéticos.

Los estudios farmacocinéticos de dosis única proveen un perfil farmacocinético que incluye información sobre la absorción, distribución, biotransformación, metabolismo y excreción. Son estudios relativamente cortos, que proveen información relevante para poder estimar matemáticamente la concentración de la droga en estudios multidosis, y permiten por tanto, ajustar la frecuencia de administración antes de iniciar el estudio, evitando exponer a los animales a altas concentraciones derivadas del efecto acumulativo de la droga. Los estudios farmacocinéticos entregan información útil para el desarrollo de nuevos programas de administración de antiparasitarios ajustándolos en relación a la eficacia y seguridad del medicamento.

La administración p.o. de formulaciones parenterales de IVM ha demostrado, tanto en estos resultados como en estudios previos, tener una absorción más rápida y niveles plasmáticos más elevados en comparación con la administración vía s.c. en perros (Gokbulut *et al.*, 2006). Asimismo, es posible visualizar la relación entre la respuesta farmacocinética y la dosis utilizada. Los resultados obtenidos en este estudio corroboran lo descrito en estudios previos, en relación al tiempo que demora en alcanzar la $C_{m\acute{a}x}$. Al comparar los datos obtenidos en este estudio con los de Gokbulut *et al.* (2006) y Telting (2010), al usar la misma vía de administración pero a diferentes dosis, es posible observar que la $C_{m\acute{a}x}$ y el ABC son proporcionales a la cantidad de droga administrada y que los otros parámetros farmacocinéticos de eliminación y $T_{m\acute{a}x}$ que no dependen de la dosis siguen un patrón similar en los 3 casos.

Por otra parte, es importante asociar el comportamiento farmacocinético de la droga con el riesgo de producir reacciones adversas en los pacientes. En este estudio, así como en el realizado por Castro (2011), la dosis de 400 µg/kg p.v. p.o. no generó ninguna manifestación clínica de RAM en los individuos tratados. Si bien en este estudio el número de muestras (cuatro) era relativamente pequeño, fue suficiente para entregar información precisa de la farmacocinética de la droga, no así para asumir que la dosis utilizada era segura. Deben realizarse más estudios para comparar los

efectos al administrar IVM una sola vez y al aplicarla diariamente por varias semanas, ya que FDA (2012) señala que hay una alta frecuencia de RAM en perros a los que se les administra oralmente la IVM.

En el tratamiento de la DCG, la IVM administrada p.o. en dosis de 600 µg/kg/día durante al menos un mes, genera una acumulación de la droga en el organismo debido a sus características farmacocinéticas, específicamente su liposolubilidad (Mueller, 2004; González *et al.*, 2009). Ristic *et al.*, (1995) señalan que dicha dosis es altamente efectiva como tratamiento de la DCG cuando se administra diariamente, pero que puede provocar cuadros de toxicosis luego de 6 semanas de uso. A modo de ejemplo, un estudio en Chile encontró que un 4,7% de los perros de razas no documentadas como sensibles, tratados con IVM p.o., presentaron una o más reacciones adversas a IVM bajo el esquema terapéutico señalado, sugiriendo que el uso *extra-etiqueta* de esta droga podría ser considerado un factor importante de considerar en la presentación de RAM en los perros tratados (Iragüen, 2010).

Merola *et al.* (2009) encontraron signos de toxicidad por IVM en perros que recibieron dosis que se documentaban como seguras. Pese a la mayor sensibilidad que pueden presentar las razas mencionadas anteriormente, no se debe descartar la posibilidad que perros de otra raza o mestizos presenten signos de toxicidad aun cuando se hayan utilizado dosis terapéuticas. La literatura señala que la signología es similar, cursando estos animales con midriasis, temores, ataxia y anorexia (Edwards, 2003).

Bissonnette *et al.* (2009) evaluaron 28 perros de razas no susceptibles a la IVM con signos neurológicos luego de la administración de IVM diaria p.o., de 4 días hasta 5 semanas de tratamiento. Estos individuos no presentaban alteraciones en el gen ABC1B1, por lo que existirían otros mecanismos de toxicidad. Posibles explicaciones para las reacciones adversas observadas incluyen dosis excesivamente altas, polimorfismo en la expresión de la P-gp, mutaciones no caracterizadas en el gen ABC1B1 o en otro gen, fenómenos no relacionados con la interacción entre P-gp y lactonas macrocíclicas sistémicas, e interacciones farmacológicas (administración de lactonas macrocíclicas sistémicas con otros sustratos o inhibidores de la P-gp). La administración paralela de fármacos inhibidores de la P-gp, como ketoconazol o ciclosporinas, podría aumentar la probabilidad de presentar reacciones adversas (Ballent *et al.*, 2009).

Por lo tanto, al utilizar un fármaco de manera *extra-etiqueta*, se debe considerar administrar la menor dosis posible que sea eficaz. Una alternativa sería el protocolo señalado por Paterson *et al.* (2009) donde se administró 500 µg/kg p.v. de IVM p.o. diariamente hasta la cura parasitológica. Otra estrategia recomendada es realizar un incremento gradual y diario de la dosis administrada de 100

$\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, con el fin de detectar anticipadamente signos de RAM y suspender la terapia (Mueller *et al.*, 2011).

La DCG es considerada una de las enfermedades dermatológicas más severas y frustrantes de tratar, con pronóstico reservado (Verde, 2005). Mueller *et al.* (2011) revisaron las posibles opciones terapéuticas para manejar la DCG y encontraron que en diversos estudios y reportes clínicos, la IVM administrada vía s.c. a dosis de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$, presentaba resultados clínicos variables e inconsistentes, por lo que la inyección semanal no se recomienda para su tratamiento. Sin embargo, en la misma revisión, el grupo encontró que existen varios estudios que utilizan una dosis 300 a 600 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ p.o. con éxito en la terapia. Castro (2011) midió la eficacia de un esquema terapéutico de 400 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ de IVM 1% p.o en perros con DCG. Los animales no presentaron RAM y el 100% de los animales jóvenes sin cuadros preexistentes respondieron al tratamiento, mientras que los perros adultos o con enfermedades de base tuvieron que recibir la dosis de 600 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ p.o. para lograr la cura clínica y parasitológica. Estos últimos antecedentes indicarían que la farmacocinética, eficacia, e incluso la seguridad en la utilización de la IVM en perros, estarían influenciadas no sólo por la dosis y vía de administración, sino también por la edad o el momento en el que se comienza a hacer la terapia en relación al cuadro clínico (Mueller *et al.*, 2011), recalcando la variabilidad individual encontrada, ya sea en la terapia como en las variables farmacocinéticas observadas.

Conclusión

Este estudio permitió describir la farmacocinética de la IVM 1% al ser administrada p.o. en dosis única de 400 µg/Kg p.v. en perros sanos. Si bien el comportamiento farmacocinético no presentó grandes variaciones en comparación a estudios con dosis superiores, se evidencia que las concentraciones de ivermectina en plasma son menores, lo que orientaría a que la dosis utilizada en este estudio podría ser más segura. Ningún perro de este estudio presentó signos de RAM.

La información obtenida en este trabajo resulta de utilidad en el estudio del tratamiento de la DCG, por cuanto orienta los fenómenos que se pueden presentar en los pacientes bajo un régimen multidosis, tal como se utiliza en el tratamiento de la DGC. Esto se basa en que la acumulación de la droga tendría relevancia en su seguridad. Además, es necesario considerar ciertos factores al momento de decidir que terapia utilizar según las condiciones del paciente, ya que podrían alterar la farmacocinética de la droga y aumentar el riesgo de RAM, por ejemplo, en perros con condición corporal extrema, efectos de la edad, raza, con enfermedades pre-existentes o al usar conjuntamente la IVM con otros fármacos que sean sustrato de la glicoproteína P. Por lo tanto, se sugiere evaluar el esquema terapéutico a utilizar caso a caso.

Referencias Bibliográficas

- AL-AZZAM, S.; FLECKENSTEIN, L.; CHENG, K.; DZIMIANSKI, M.; MCCALL, J.** 2007. Comparison of the pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin after oral administration to beagle dogs. *Biopharm. Drug Dispos.* 28: 431–438.
- BALLENT, M.; LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; MATE, L.; LANUSSE, C.** 2009. Pretreatment with the inducers rifampicin and phenobarbital alters ivermectin gastrointestinal disposition. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 33: 252–259.
- BISSONNETTE, S.; PARADIS, M.; DANEAU, I.; SILVERSIDES, D.** 2009. The *ABCB1-1Δ* mutation is not responsible for subchronic neurotoxicity seen in dogs of non-collie breeds following macrocyclic lactone treatment for generalized demodicosis. *Vet. Dermatol.* 20: 60–66.
- CASTRO, M.** 2011. Estudio descriptivo de la eficacia clínica de un esquema terapéutico de ivermectina en caninos con demodicosis generalizada. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 17 p.
- CLARK, S.; CROWLEY, A.; SCHMIDT, P.; DONOGHUE, A.; PICHÉ, C.** 2004. Long-term delivery of ivermectin by use of poly (D,L-lactic-co-glycolic) acid microparticles in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 65 (6): 752-757.
- DOURMISHEV, A.; DOURMISHEV, L.; SCHWARTZ, R.** 2005. Review ivermectin: pharmacology and application in dermatology. *Int. J. Dermatol.* 44: 981-988.
- DOWLING, P.** 2006. Pharmacogenetics: it's not just about ivermectin in collies. *Clin. Vaccine Immunol.* 47: 1165-1168.
- EDWARDS, G.** 2003. Ivermectin: does P-glycoprotein play a role in neurotoxicity?. [en línea]. <<http://filariajournal.com/content/2/S1/S8>> [consulta: 06-10-2012].
- ERASLAN, G.; KANBUR, M.; LIMAN, B.; ÇAM, Y.; KARABACAK, M.; ALTINORDULU, S.** 2010. Comparative pharmacokinetics of some injectable preparations containing ivermectin in dogs. *Food Chem. Toxicol.* 48: 2181–2185.
- FDA. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION.** 2012. Cumulative veterinary adverse event (ADE) reports. [en línea]. <<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/ProductSafetyInformation/UCM055407.pdf>> [consulta: 06-10-2012].

- FINK, D.; PORRAS, A.** 1989. Pharmacokinetics of ivermectin in animals and humans. **In:** Campbell, W. Ivermectin and Abamectin. Springer-Verlag. New York, USA. pp. 113-130.
- GOKBULUT, C.; KARADEMIR, U.; BOYACIOGLU, M.; McKELLAR, A.** 2006. Comparative plasma dispositions of ivermectin and doramectin following subcutaneous and oral administration in dogs. *Vet. Parasitol.* 135: 347-354.
- GONZÁLEZ, A.; SAHAGÚN, A.; DIEZ, M.; FERNÁNDEZ, N.; SIERRA, M.; GARCÍA, J.** 2009. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *Vet. J.* 179: 25-37.
- GRAMER, I.; LEIDOLF, R.; DÔRING, B.; KLINTZSCH, S.; KRÂMER, E.; YALCIN, E.; PETZINGER, E.; GEYER, J.** 2011. Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *Vet. J.* 189: 67-71.
- IRAGÜEN, D.** 2010. Farmacovigilancia: Estudio de reacciones adversas a medicamentos en animales de compañía en las comunas del Gran Santiago. Tesis para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile. 106 p.
- KAYA, D.; INCEBOZ, T.; KOLATAN, E.; GÜNELI, E.; YILMAZ, O.** 2010. Comparison of efficacy of ivermectin and doramectin against mange mite (*Sarcoptes scabiei*) in naturally infested rabbits in Turkey. *Vet. Ital.* 46: 51-56.
- MEALEY, K.; MUNYARD, K.; BENTJEN, S.** 2005. Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of herding breed dogs living in Australia. *Vet. Parasitol.* 131: 193–196.
- MEROLA, V.; KHAN, S.; GWALTNEY-BRANT, S.** 2009. Ivermectin toxicosis in dogs: a retrospective study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 45: 106- 111.
- MORENO, C.** 2009. Evaluación de la eficacia del tratamiento con ivermectina oral en pacientes caninos afectados por demodicosis generalizada. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 70 p.
- MUELLER, R.** 2004. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Vet. Dermatol.* 15: 75–89.
- MUELLER, R.; BETTENAY, S.** 1999. A proposed new therapeutic protocol for the treatment of canine mange with ivermectin. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35: 77- 80.

- MUELLER, R.; BENSIGNOR, E.; FERRER, E.; HOLM, B.; LEMA RIE, S.; PARADIS, M.; SHIPSTONE, M.** 2011. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. *Vet. Dermatol.* 32: 86-121.
- PATERSON, T.; HALLIWELL, R.; FIELDS, P.; LOUW, M.; LOUW, J.; BALL, G.; PINCKNEY, R.; MCKIBBEN, J.** 2009. Treatment of canine-generalized demodicosis: a blind, randomized clinical trial comparing the efficacy of Advocate (Bayer Animal Health) with ivermectin. *Vet. Dermatol.* 20: 447-455.
- PÉREZ, R.; CABEZAS, I.; GODOY, C.; RUBILAR, L.; MUÑOZ, L.; ARBOIX, M.; CASTELLS, G.; ALVINERIE, M.** 2002. Pharmacokinetics of doramectin and ivermectin after oral administration in horses. *Vet. J.* 163: 161-167.
- RISTIC, Z.; MEDLEAU, L.; PARADIS, M.; WHITE-WEITHERS, N.** 1995. Ivermectin for treatment of generalized demodicosis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207: 1308 -1310.
- SAG. SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO DE CHILE.** 2012a. Sistema en línea de búsqueda de medicamentos veterinarios autorizados por el SAG. [en línea]. <http://medicamentos.sag.gob.cl/ConsultaUsrPublico/BusquedaMedicamentos_1.asp> [consulta: 06-10-2012].
- SAG. SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO DE CHILE.** 2012b. Decreto N° 24, del 13 de mayo de 2011, que modifica el Decreto N° 25/2005 (Reglamento de productos farmacéuticos de uso exclusivamente veterinario). [en línea]. <<http://www.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hJYDqC9V8Qcaq89cmzNMQGw%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivold=47878>> [consulta: 06-10-2012].
- SCHWARTZ, S.; PATEMAN, T.** 2004. Pre-clinical pharmacokinetics. *In:* Evans, G. (Ed.). A handbook of bioanalysis and drug metabolism. CRC Press. Florida, USA. s/n.
- SNYDER, D.; WISEMAN, S.; CRUTHERS, L.; SLONE, R.** 2011. Ivermectin and milbemycin oxime in experimental adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection of dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 25: 61-64.
- TELTING, C.** 2010. Comparación de los parámetros farmacocinéticos de ivermectina administrada vía oral y subcutánea en caninos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 14 p.

VERDE, M. 2005. Canine demodicosis: treatment protocol. **In:** North American Veterinary Conference. Florida, USA 8-12 anuary 2005. [en línea]. <<http://www.ivis.org/proceedings/navc/2005/SAE/114.pdf?LA=1>> [consulta: 06-10-2012]. pp 299-300.

ANEXO 1



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias
Comité de Bioética Animal

Santiago, 11 de octubre de 2011

CERTIFICADO

En relación con los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales, tenida a la vista la metodología del Proyecto de Memoria de Título “**Estudio farmacocinético de ivermectina administrada via oral en perros adultos**”, cuyo Profesor Guía es la Dra. **Daniela Iragüen**, y el estudiante es Gonzalo Muñoz Canales, el Comité de Bioética Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile certifica que éste satisface lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigación biomédica, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité, y no contraviene la legislación chilena vigente sobre la materia.

A este respecto el Comité estima que el estudio propuesto usa material biológico obtenido de intervenciones médico veterinarias autorizadas en cantidad y calidad que no causan sufrimiento a los animales.

Dr. José Luis Arias B.
Director
Comité de Bioética Animal

Dr. Santiago Urcelay V.
Decano



ANEXO 2

C O N S E N T I M I E N T O

_____ de _____ de 2011

Yo, _____ R.U.T.: _____-, con residencia en _____, comuna La Granja, Santiago, he sido informado (a) de las condiciones del estudio que será realizado por el señor Gonzalo Muñoz Canales, quien desarrollará su memoria para optar al título de médico veterinario de la Universidad de Chile, trabajo que será guiado por la Dra. Daniela Iragüen Contreras, docente de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

Mi mascota llamada _____, especie canina participará en un estudio farmacocinético en el que se le administrará ivermectina (Ivomec®) vía oral en dosis de 400 µg/kg. Durante un periodo de 40 días se extraerán 23 muestras de sangre de 10 ml cada una. Los primeros cuatro días se mantendrá en una clínica veterinaria particular donde se obtendrán las primeras 12 muestras. El resto de las muestras se obtendrán en visitas al domicilio. He comprendido y acepto las condiciones anteriormente descritas.

Dra. Daniela Iragüen C.
Profesora Guía
Departamento de Ciencias Clínicas
Favet

Propietario

ANEXO 3



C O M P R O M I S O

_____ de _____ de 2011

Yo, _____ R.U.T.: _____-, con residencia en _____, comuna La Granja, Santiago, he sido completamente informado (a) de las condiciones del estudio que será realizado por el señor Gonzalo Muñoz Canales, y he decidido libremente participar incluyendo a mi mascota llamada _____ en dicha actividad.

Por lo tanto, me comprometo a permitir que mi perro sea tratado con una dosis de 400 µg/kg de ivermectina por vía oral (Ivomec®) y a que se tomen las muestras necesarias (23) para realizar dicho estudio. Además, me comprometo a notificar todos los antecedentes relacionados con el manejo de mi mascota en la medida que éstos sean solicitados.

Asimismo, declaro y acepto que mi participación es voluntaria y, de ser necesario o considerar pertinente, estoy en facultad de retirar a mi mascota del estudio en cualquier momento, informando oportunamente de esta decisión al Sr. Gonzalo Muñoz Canales.

Dra. Daniela Iragüen C.
Profesora Guía
Departamento de Ciencias Clínicas
Favet

Propietario