

## **Contribución fármaco-parasitológica integrada a la comprensión del fenómeno de resistencia antihelmíntica**

**Carlos E. Lanusse**

**Méd Vet., Dr. Cs. Vet., Ph.D., Dip ECVPT**

Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA.

Campus Universitario, 7000, Tandil, Argentina.

E-mail: [clanusse@vet.unicen.edu.ar](mailto:clanusse@vet.unicen.edu.ar)

### **Introducción**

El incorrecto uso de fármacos en Medicina Veterinaria y la inadecuada valoración de sus efectos indeseables sobre el animal tratado, la salud del consumidor y el medio ambiente, son problemas aún no resueltos. La comprensión de los procesos farmacocinéticos y metabólicos que sufre una molécula xenobiótica cuando toma contacto con un organismo vivo, como así también, la caracterización de ciertos factores que pueden afectar dichos procesos, son relevantes para: a) optimizar la respuesta farmacológica cuando se trate de sustancias utilizadas con fines terapéuticos ó profilácticos; b) evitar la aparición de efectos colaterales indeseables; c) evitar el desarrollo de resistencia (fármacos antibacterianos, antiparasitarios, etc.); d) determinar adecuados períodos de retirada, previo a que la carne ó leche de un animal tratado se destine a consumo humano; e) predecir un eventual impacto ambiental negativo como consecuencia de la eliminación de residuos químicos en materia fecal.

La enfermedad parasitaria es la causa más importante de pérdidas en productividad ganadera en muchas regiones del mundo. Estas pérdidas económicas se relacionan con morbilidad y mortalidad de animales, reducción de los niveles de producción, alteraciones reproductivas e inversión en medidas de control químico. Aunque se ha avanzado en la búsqueda de estrategias de control no químico (control biológico, vacunas etc.), el tratamiento antiparasitario todavía depende (y pareciera que por mucho tiempo más) del uso de fármacos. Una porción relevante de las pérdidas económicas causadas por parasitismo en producción animal, está dada por la inversión en medidas de control. El fracaso en el control antiparasitario, basado casi exclusivamente en quimioterapia, tiene una importancia económica de enorme trascendencia en países como la Argentina, donde las condiciones climáticas y de explotación favorecen una alta incidencia del parasitismo. La disponibilidad futura de nuevas moléculas antiparasitarias está comprometida por el progresivo aumento del fenómeno de resistencia y los crecientes costos de investigación y desarrollo. Además, el elevado umbral que significó el descubrimiento de los fármacos endectocidas por sus características de espectro y potencia, ha complicado las posibilidades para que la industria farmacéutica pueda desarrollar alguna molécula «superior» que justifique una inversión en investigación y desarrollo, considerando lo poco atractivo que en términos económicos resulta el fragmento de Salud Animal comparado al de Salud Humana para las grandes corporaciones farmacéuticas. Dado el alto costo y bajo

retorno de la investigación/desarrollo de fármacos parasiticidas, se requieren nuevos enfoques en el proceso de descubrimiento de drogas, lo que implicará mayor investigación básica y costos más elevados (Geary, 1999). El desafío es encontrar estrategias de control que permitan un uso prudente y racional de los fármacos disponibles, quizá en el futuro combinados con estrategias de control no químico, que aseguren mantener las poblaciones parasitarias por debajo de su umbral económico, sin riesgos de residuos medicamentosos en carne y leche (FAO, 2003). La falta de integración entre manejo animal y tratamiento, el incorrecto uso de drogas antihelmínticas debido al desconocimiento de sus propiedades farmacológicas y de los factores que afectan las mismas, han sido elementos relevantes en la falla del control antiparasitario en animales de producción.

Se requiere de investigación de base farmacológica para optimizar el uso de las drogas antiparasitarias disponibles y preservar de manera sustentable en el tiempo aquellas moléculas nuevas que puedan desarrollarse. *El Programa de Investigación que se desarrolla en nuestro Laboratorio desde el año 1992 ha contribuido con la generación de conocimiento original en la interfase de las disciplinas Farmacología y Parasitología Veterinaria.* El mismo está basado en un abordaje interdisciplinario integral, que busca *profundizar en el entendimiento de los aspectos farmacológicos que hacen a la más adecuada y eficiente utilización terapéutica de fármacos antiparasitarios en rumiantes, en busca de una optimización del tratamiento que evite/retarde la aparición de resistencia, que redunde en un menor costo de producción y, que permita un más certero conocimiento de los perfiles de residuos de droga en tejidos de animales tratados que van al consumo humano.* Modificaciones farmacocinéticas y metabólicas pueden afectar la concentración y/o período de tiempo en el que los parásitos están expuestos a droga activa y, por consecuencia la eficacia clínica de los tratamientos y el éxito de los programas de control antiparasitario en Salud y Producción Animal.

El programa global comprende diferentes aspectos de la investigación orientada a caracterizar la relación entre farmacocinética, metabolismo, distribución tisular e interacción droga-parásito para fármacos antiparasitarios en rumiantes. Se busca generar información de base farmacológica que abarca desde aspectos moleculares básicos de la relación hospedador-fármaco-parásito, hasta la generación de investigación aplicada que permita caracterizar la influencia de diferentes factores sobre el comportamiento farmacocinético/metabólico y los procesos de distribución tisular y captación parasitaria de drogas antiparasitarias en rumiantes. Además de la caracterización farmacocinética y de los factores que afectan a la misma, se buscan alternativas para incrementar la biodisponibilidad y eficacia de estos fármacos antiparasitarios, mediante la interferencia con diferentes procesos metabólicos y cinéticos. Se desarrollan modelos de infección parasitaria experimental para valorar la correlación entre características farmacológicas y actividad antihelmíntica de drogas/metabolitos. Se ha progresado en la identificación estrategias científicas que relacionan conceptos de quiralidad y metabolismo enantioselectivo, como así también la caracterización molecular de sistemas transportadores celulares involucrados en el metabolismo y excreción

de fármacos en el hospedador y en el parásito blanco, con especial énfasis en la comprensión de los mecanismos de resistencia antihelmíntica. Tomando a los fármacos **benzimidazoles** como modelo de una molécula antihelmíntica y a las **lactonas macrocíclicas** como modelo de compuestos endectocidas, se caracterizan mediante ensayos **farmacocinéticos *in vivo*, estudios *ex vivo* e *in vitro* de biotransformación y transporte celular de fármacos y metabolitos, estudios de interacción droga/parásito** (susceptibles y resistentes) y con el apoyo de técnicas de biología molecular, diferentes aspectos de base farmacológica que son críticos para optimizar el control antiparasitario en sanidad y producción animal. Las principales estrategias de estudio en el marco del mencionado Programa de Investigación en la Farmacología de las Drogas Antiparasitarias y tomando como abordaje el eje conceptual hospedador-fármaco-parásito, se resumen en la Figura 1.

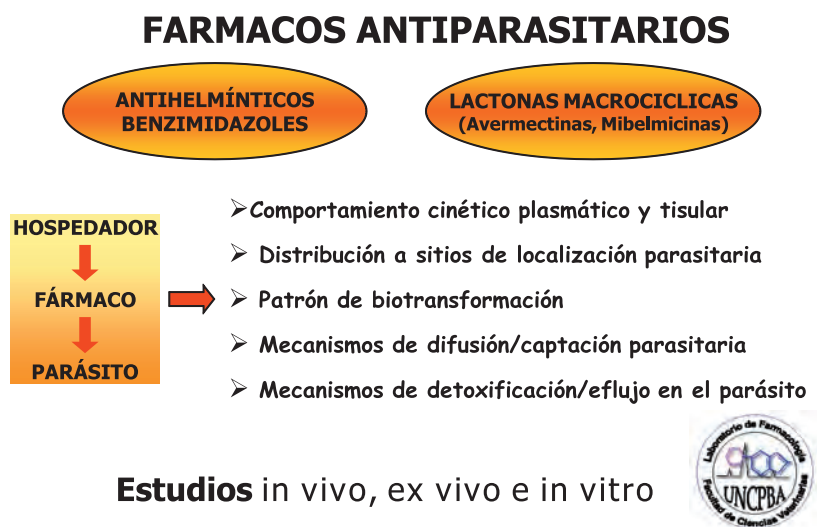


Figura 1: Representación esquemática de las principales estrategias de investigación bajo desarrollo en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria, UNCPBA.

El presente artículo es sólo un marco referencial que describe en forma esquemática los principales resultados obtenidos en la investigación fármaco-parasitológica enunciada, abordando aspectos generales de las bases moleculares de la resistencia antihelmíntica e incluyendo el soporte bibliográfico necesario para la búsqueda de información más detallada en cada una de las temáticas que se discuten.

## Bases farmacológicas de la actividad antihelmíntica

La eficacia de los fármacos antihelmínticos sobre parásitos localizados en tejidos de difícil acceso depende de la disponibilidad sistémica y del tiempo de permanencia de droga activa en el organismo del animal tratado. Para lograr un efecto sistémico, un fármaco antihelmíntico administrado por una vía enteral o parenteral debe ser absorbido, distribuido en diferentes tejidos y alcanzar concentraciones adecuadas en el sitio de localización parasitaria. Diferentes factores de manejo pueden inducir modificaciones que impacten sobre la cantidad de droga activa que llega al lugar donde el parásito está localizado, y más importante aún, sobre la extensión del período de tiempo en el cual una concentración tóxica del fármaco está en contacto con dicho estadio parasitario. Tal como se describe a lo largo de este artículo, la estrecha relación entre farmacocinética y actividad antiparasitaria ha sido demostrada. Un notable progreso en la comprensión de los procesos que gobiernan la distribución del fármaco/metabolito activo hacia los sitios de localización de los parásitos más patógenos en rumiantes, ha sido alcanzado (ver Alvarez, *et al.* 1999, 2000, 2007 y Lifschitz *et al.* 2000). Del trabajo realizado surge la existencia de una correlación entre las características físico-químicas de los fármacos estudiados, la cantidad de droga que llega al tejido donde se encuentra el parásito blanco y los procesos de captación/difusión de la misma en diferentes helmintos (cestodes, trematodos y nematodos) (ver Alvarez *et al.* 1999, 2000, 2007). Esto ha sido además correlacionado con los procesos de captación de droga/metabolitos por diferentes géneros parasitarios. Los aspectos básicos de los cuales depende la actividad antiparasitaria se enumeran en la Figura 2. La comprensión de cada uno de esos aspectos resume la mayor parte de las contribuciones disciplinares de nuestro grupo que se describen en el presente trabajo. Dicho conocimiento básico es crítico para poder optimizar el uso de los fármacos disponibles (o de eventuales nuevas moléculas) frente al fenómeno de desarrollo de resistencia.

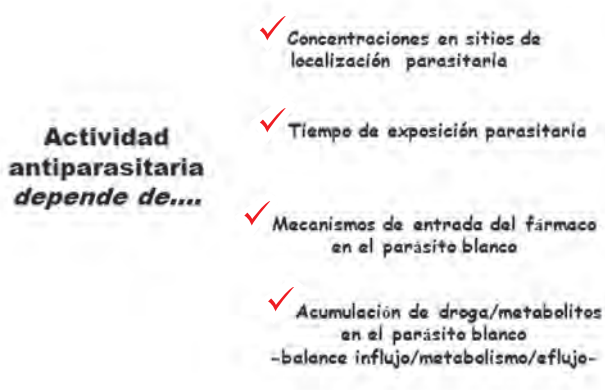


Figura 2: Elementos farmacológicos críticos para lograr un adecuado efecto antiparasitario. Bases farmacológicas que definen la susceptibilidad y/o resistencia al efecto de un fármaco antihelmíntico.

## Fármacos nematodocidas: antihelmínticos benzimidazoles

Los antihelmínticos benzimidazoles (BZD) comparten un grupo central benzimidazole, a partir del cual se han sintetizado gran cantidad de moléculas. Se clasifican en cuatro grupos: BZD tiazoles; BZD metil-carbamatos; pro-BZD y BZD halogenados (Lanusse y Prichard, 1993). Tiabendazole (TBZ) un BZD tiazol, fue el primer BZD aprobado como antihelmíntico. La adición en posición 2- del núcleo BZD de un grupo metil-carbamato, incrementó la liposolubilidad y potencia antihelmíntica de estas moléculas. Los principales BZD metilcarbamatos utilizados incluyen albendazole (ABZ) y su metabolito activo ABZ-sulfóxido (ABZSO, también conocido como ricobendazole), fenbendazole (FBZ) y su metabolito activo FBZ-sulfóxido conocido como oxfendazole (OFZ), oxibendazole (OBZ) y mebendazole (MBZ). Los fármacos pro-BZD carecen de actividad farmacológica, por lo cual deben ser metabolizados en el organismo para generar moléculas activas. Mientras que febantel (FBT) es oxidado principalmente en hígado a fenbendazole (FBZ) (Montessissa *et al.*, 1989), netobimin (NTB) es reducido por la microflora ruminal a ABZ. Si bien NTB puede formularse como una solución de administración parenteral, el uso de esta vía evita en gran medida la sulforeducción bacteriana ruminal (Lanusse *et al.*, 1990), lo cual resulta en una reducida biodisponibilidad de los metabolitos activos. Dentro de los BZD halogenados encontramos a triclabendazole (TCBZ). Esta molécula es la única reconocida con elevada eficacia sobre estadios inmaduros y maduros de *Fasciola hepática*.

El mecanismo de acción de los antihelmínticos BZD se basa en la unión de estos con la tubulina, proteína soluble que constituye la estructura básica de los microtúbulos. Diferentes estudios han demostrado que los BZD se unen en forma reversible al sitio de unión de colchicina en la subunidad  $\beta$  de la tubulina (Lacey, 1990). Los dímeros de tubulina unidos a la molécula del fármaco BZD no pueden polimerizarse para formar los microtúbulos, alterándose de esta forma el equilibrio microtúbulos-tubulina. Existe un gran número de funciones celulares que son dependientes de la integridad de los microtúbulos. La mayor afinidad de los BZD por la tubulina de los parásitos helmintos, explica la baja toxicidad de los mismos en mamíferos. El efecto ovicida demostrado para la mayoría de los BZD, así como los efectos teratogénicos evidenciados luego de su uso en hembras ovinas gestantes pueden explicarse por su acción anti-microtubular. La disrupción del equilibrio microtúbulos-tubulina bloquea la absorción y excreción de nutrientes por el parásito. *In vivo* la acción antihelmíntica de los BZD no es inmediata; se requieren concentraciones sostenidas en el tiempo para asegurar la modificación de ciertas funciones vitales que faciliten el desprendimiento de los helmintos de sus sitios predilectos de localización. Por esta razón, mientras que la administración de una única dosis (3.8 mg/kg) de ABZ en ovinos redujo el número de *Haemonchus contortus* resistentes en un 21.1 %, la administración durante 5 días consecutivos (1 mg/kg) elevó este porcentaje al 89 %. (Kwan *et al.*, 1988) En consecuencia, aumentos en la biodisponibilidad de estos compuestos sumados a una mayor persistencia, redundarán en elevada eficacia antihelmíntica.

El comportamiento farmacocinético de los fármacos BZD en rumiantes está condicionado por las características físico-químicas y posibilidades farmacotécnicas para formular los mismos. La baja solubilidad acuosa de los BZD determina que se los formule como suspensiones. Este tipo de formulación presenta la limitante de que sólo puede ser administrada por vía enteral (oral ó intraruminal). La disolución del principio activo debe preceder necesariamente a la absorción. Las moléculas que no logren disolverse no presentarán actividad farmacológica y serán eliminadas con la materia fecal. Después de administrada, la droga se adsorbe en gran proporción al material particulado presente en el contenido ruminal. Los BZD metilcarbamatos se disuelven en mayor grado a bajos valores de pH, constituyendo el abomaso un sitio ideal para la disolución de los mismos. Sumado a esto, el rumen «libera» fármaco en forma gradual facilitando el proceso de disolución. El ayuno de los animales previo al tratamiento retarda el tránsito gastrointestinal (GI) y favorece una mejor disolución de la formulación, lo cual se traduce en incrementos significativos de las concentraciones plasmáticas de los principios activos (Sanchez *et al.*, 1997). Si un BZD administrado por vía oral estimula el cierre de la gotera esofágica, el compuesto será depositado directamente en el abomaso evitando su paso por el rumen. La llegada masiva del fármaco al abomaso, impide que las partículas de la formulación se disuelvan en forma óptima (Hennessy, 1993). En consecuencia, existirá menor absorción y menor disponibilidad sistémica de droga activa, con compromiso de la eficacia del tratamiento.

La droga absorbida puede sufrir metabolismo intestinal, hepático (principal sitio de metabolismo) y/o pulmonar. Dada la liposolubilidad de los compuestos BZD metilcarbamatos, un intenso proceso de biotransformación es requerido para facilitar su posterior eliminación. Por esta razón, son muy bajas o nulas las concentraciones de droga madre detectadas en el plasma de los animales tratados, siendo los metabolitos sulfóxidos las principales moléculas detectadas. Los principales sistemas enzimáticos responsables del metabolismo de los BZD se encuentran localizados en el retículo endoplásmico (fracción microsomal) de los hepatocitos o del enterocito. Estos son el sistema enzimático flavin-monooxigenasa (FMO) y el sistema citocromo P-450 (Cit. P-450). El sistema FMO es responsable de la oxidación de ABZ y FBZ a nivel del átomo de azufre (sulfoxidación), originando ABZSO u OFZ, respectivamente. Los sulfóxidos son los principales metabolitos plasmáticos recuperados en ovinos. Una segunda oxidación a cargo del sistema Cit. P-450, produce el metabolito sulfona a partir del sulfóxido. Mientras que los metabolitos sulfóxidos poseen actividad farmacológica (menor que la droga madre), las sulfonas son metabolitos inactivos. Los metabolitos sulfóxidos (ABZSO, OFZ) son eficientemente reducidos a sus respectivas drogas madre (ABZ, FBZ, respectivamente) por acción de la flora microbiana ruminal e intestinal (Lanusse *et al.*, 1992b). Esta reducción incrementa la disponibilidad de droga madre a nivel intestinal favoreciendo el efecto antihelmíntico final dado que ABZ o FBZ tienen mayor liposolubilidad, mayor capacidad de atravesar la cutícula de los nematodos y concentrarse en su interior y mayor afinidad por la  $\beta$  tubulina del parásito, comparado con sus respectivos metabolitos sulfóxidos. De hecho, gran parte de la actividad antihelmíntica observada tras la administración de ABZSO ó OFZ puede

ser atribuida a las concentraciones de droga madre originadas a partir de la reducción microbiana de los metabolitos. Al presentar un átomo de carbono asimétrico, ABZSO y/o OFZ se presentan con dos conformaciones espaciales diferentes denominadas enantiómeros. Tras la administración de ABZ en ovinos, el 86 % del ABZSO presente en plasma corresponde al enantiómero (+) (Delatour et al., 1990). Este diferente patrón de concentraciones de cada enantiómero estaría dado por un metabolismo enantioselectivo mediado por Cit. P-450 (sulfonación). Las características del metabolismo enantioselectivo (sulfoxidación) de ABZ y FBZ en hígado y de la sulforeducción e inversión quiral de los enantiómeros de ABZSO y OFZ en rumiantes, ha sido extensivamente investigada en nuestro laboratorio (ver Virkel *et al.*, 2002; Virkel *et al.*, 2004), dada la importancia que estos fenómenos tienen en la actividad antihelmíntica de estas moléculas.

Desde la circulación sanguínea, los metabolitos se distribuyen a los diferentes compartimentos tisulares. El gradiente de pH existente entre el plasma y el abomaso favorece el «atrapamiento» de las moléculas a este nivel (Lanusse y Prichard, 1993b). Una parte importante del fármaco presente en la circulación sistémica puede alcanzar el tubo digestivo con las secreciones abomasales e intestinales. Dada la mayor liposolubilidad de las moléculas madre (ABZ, FBZ), estas se concentran en tejidos de mayor contenido lipídico, asegurando su presencia en mucosas y en los mismos parásitos «blanco», lo cual es fundamental desde el punto de vista de la eficacia clínica. La recirculación de fármaco entre el plasma y el tracto GI es sumamente importante en el efecto antihelmíntico sobre parásitos localizados a nivel de las mucosas GI. Por otro lado, la distribución del fármaco desde el plasma hacia diferentes tejidos posibilita el acceso al pulmón y los conductos biliares que son sitios de localización de parásitos tales como *Dictyocaulus spp.* y *F. hepatica*, respectivamente.

Los BZD metilcarbamatos pueden tener en posición 5- del núcleo químico BZD, un reemplazo aromático (FBZ, OFZ) o alifático (ABZ, PBZ). Las diferencias en el grupo químico de reemplazo tienen implicancias en el metabolismo y la eliminación. Las moléculas con una sustitución aromática son metabolizadas con mayor dificultad, y en consecuencia tras la administración de FBZ es posible detectar bajas concentraciones de la droga madre en plasma. Además, la eliminación se realiza mayoritariamente por bilis. Por el contrario, tras la administración de ABZ éste es rápidamente metabolizado, siendo eliminado en un 70 % por vía urinaria (Hennessy et al., 1989). En orina de ovinos tratados con ABZ el principal metabolito recuperado es ABZSO detectándose pequeñas cantidades (aproximadamente el 1 % de la dosis administrada) de ABZ. Sólo el 30 % de la dosis de ABZ administrada es eliminada por materia fecal. El fármaco presente en la misma proviene de aquel que no llegó a disolverse y atravesó el tracto GI sin absorberse, el eliminado por bilis, el eliminado por secreción abomasal e intestinal. Tras la administración de ABZ en cabras, las concentraciones plasmáticas de los metabolitos sulfóxido y sulfona caen más rápidamente comparado con los ovinos (Hennessy *et al.*, 1993). Los procesos farmacocinéticos son los que en definitiva determinan las concentraciones de fármaco en el sitio de localización de los parásitos que se pretende eliminar. Por tal razón, existe una estrecha relación entre farmacocinética y efecto antihelmíntico.

Los antihelmínticos BZD son fármacos que poseen un amplio espectro antihelmíntico, con actividad variable sobre diferentes helmintos de acuerdo al fármaco. En ovinos a la dosis de 5 mg/kg, ABZ presenta una eficacia superior al 98 % frente a nematodos GI y tenias. También a esta dosis presenta actividad sobre parásitos pulmonares y larvas hipobióticas. Dosis mayores de ABZ (7,5 mg/kg), son requeridas para el control de *F. hepatica* adultas (> 12 semanas) y *Thysanosoma actinooides*, cestode localizado en el conducto colédoco (Campbell, 1990). Además de presentar actividad sobre nematodos, trematodos y cestodos, ABZ ha demostrado ser eficaz contra *Giardia lamblia* (Xiao et al., 1996). En humanos, ABZ es considerado como fármaco de elección para el tratamiento de neurocisticercosis e hidatidosis.

La resistencia parasitaria a fármacos antihelmínticos representa un problema serio en la mayoría de los sistemas productivos del mundo, especialmente en aquellos intensivos o semi-extensivos. Con el objetivo de minimizar las probabilidades de un fracaso terapéutico tras el tratamiento antihelmíntico, se han desarrollado diferentes formas farmacéuticas y/o formulaciones que incluyen uno o varios principios activos con diferente mecanismo de acción. En infestaciones parasitarias mixtas es frecuente encontrar diferentes cepas de parásitos resistentes a un único grupo químico. Por tal razón, es de esperar que tras el tratamiento simultáneo con dos principios activos que actúan por diferentes mecanismos, se alcance un efectivo control antihelmíntico dado que un parásito resistente al fármaco A, será eliminado por el fármaco B y viceversa. En el mercado farmacéutico veterinario, especialmente en Uruguay, Australia y Nueva Zelanda, se encuentran disponibles productos comerciales de administración oral en ovinos que combinan fármacos de diferente grupos químicos: ABZ + levamisole; FBZ + levamisole; OFZ + levamisole; OFZ + closantel; FBZ + levamisole + praziquantel; ABZ + ivermectina + levamisole; ABZ + abamectina + levamisole + closantel; naftalofós + ABZ + levamisol. No existen evidencias de una potenciación en el efecto antiparasitario entre fármacos con diferente mecanismo de acción, de tal forma que los mejores resultados terapéuticos se relacionan a un efecto aditivo entre los diferentes principios activos que componen el producto comercial. Nuevamente, el uso indiscriminado de este tipo de preparados sin supervisión profesional, puede determinar una gran presión de selección de cepas multi-resistentes, agravando el cuadro de resistencia parasitaria.

Sólo algunas moléculas pertenecientes al grupo de los antihelmínticos BZD pueden ser utilizadas como trematodocidas para el control de *F. hepatica* y *F. gigantica*. Entre ellas, las de mayor uso son netobimin (pro-BZD), albendazole (ABZ) y triclabendazole (TCBZ). TCBZ es un BZD halogenado que a diferencia de ABZ presenta actividad sobre estadios maduros e inmaduros de *F. hepatica* (> 2 días), pero no tiene actividad contra nematodos y/o cestodos. Mientras que la actividad fasciolocida de ABZ se basa en una actividad antimicrotubular, el mecanismo de acción de TCBZ aún no ha sido fehacientemente determinado. Tras la administración oral de TCBZ, sólo sus metabolitos TCBZ-sulfóxido (TCBZSO) y TCBZ-sulfona (TCBZSO<sub>2</sub>) son detectados en plasma por un periodo de



aproximadamente 120 h. Las máximas concentraciones plasmáticas en ovinos se encuentran en el rango de 13,3 (TCBZSO) y 13,2 (TCBZSO<sub>2</sub>) µg/ml y son alcanzados a las 18 y 36 h post-tratamiento, respectivamente. Las altas concentraciones de los metabolitos de TCBZ en plasma comparado con otros BZD, se relacionan con la elevada unión a proteínas plasmáticas (>99%) de estos compuestos, principalmente a albúmina. Metabolitos hidroxilados en su forma libre o conjugada con ácido glucurónico o sulfatos son detectados en la bilis de los animales tratados. La actividad farmacológica de TCBZ depende en gran parte de la actividad del metabolito sulfóxido y probablemente de la del propio TCBZ que en bajas concentraciones puede ser recuperado en bilis y en especímenes de *F. hepatica* recuperadas de animales tratados. La caracterización de las vías metabólicas por las cuales TCBZ es oxidado tanto en el animal hospedador (Virkel *et al.*, 2006) como en la propio parásito blanco (Mottier *et al.*, 2004), como de los mecanismos involucrados en el influjo/eflujo de TCBZ y sus metabolitos en *F. hepatica* (Alvarez *et al.*, 2007) ha sido investigado en profundidad por su vinculación con el desarrollo de resistencia, siendo este un aporte sustancial al conocimiento sobre la temática que se ha hecho desde nuestro Laboratorio (ver Alvarez *et al.* 2007). En efecto, incrementos en el metabolismo oxidativo y en el eflujo mediado por transportadores celulares que limitan la acumulación de TCBZ y metabolitos en dentro de la *Fasciola*, han sido propuestos como mecanismos de resistencia al fármaco, un inconveniente de trascendencia creciente en muchas regiones del mundo. Adicionalmente, TCBZ se presenta formulado en combinación con otros fármacos antihelmínticos para uso oral en ovinos en especial con avermectinas (ivermectina, abamectina), con el objetivo de incrementar el espectro antiparasitario del preparado comercial. Recientemente hemos demostrado la existencia de una interacción entre ambos tipos de fármacos (TCBZ e ivermectina) tanto *in vitro* como *in vivo* basada en la competencia entre ambas moléculas por sistemas transportadores involucrados en la excreción intestinal (ver Lifschitz *et al.*, 2009).

### **Fármacos ecto-endoparasiticidas: avermectinas y milbemicinas**

Ivermectina (IVM) fue la primer avermectina introducida como fármaco antiparasitario en Medicina Veterinaria en 1981, sucediéndole más tarde la incorporación de otros compuestos de este grupo, como así también de la familia de las milbemicinas (moxidectin). Las drogas de ambas familias poseen actividad sobre endo y ectoparásitos, recibiendo la denominación de *fármacos endectocidas*, lo cual define la combinación de sus efectos *nematodocida*, *insectocida* y *acarocida*. La elevada potencia, su dosificación en el orden de los microgramos por kilo, el amplio espectro y la persistencia de su actividad antiparasitaria significaron un notable éxito, siendo hoy las drogas más vendidas en la historia de la terapéutica en Medicina Veterinaria.

**Principios fármaco-químicos de la actividad endectocida.** Los fármacos endectocidas (lactonas macrocíclicas) pertenecen a dos grandes familias según sea el actinomiceto de cuya fermentación provienen: *avermectinas* y *milbemicinas*. La compleja estructura química de estos fármacos corresponde a una *lactona*

*macrocíclica* de 16 miembros similar a aquella de los antibióticos macrólidos, pero sin tener efecto antibacteriano, unida a un grupo benzofurano (C<sub>2</sub> a C<sub>8</sub>) y a un anillo espiroquetal (C<sub>17</sub> a C<sub>25</sub>). Son moléculas de gran tamaño con peso molecular entre 600 Kd (milbemicinas) y 800 Kd (avermectinas). Las avermectinas (AVM) clásicas, abamectina (ABM), ivermectina (IVM), doramectina (DRM), eprinomectin (EPM) derivan de la fermentación del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. ABM es el producto natural proveniente de la fermentación (AVM B<sub>1a</sub>) e IVM es un derivado semisintético de la AVM B<sub>1a</sub>, conteniendo un 80% de 22,23-dihidroavermectina B<sub>1a</sub> y no más de un 20% de 22,23 dihidroavermectina B<sub>1b</sub>. (Fisher y Mrozik, 1989). ABM difiere de IVM a nivel de la doble unión no saturada entre C22-C23. DRM (25-ciclohexilo-avermectina B<sub>1</sub>) fue obtenida por biosíntesis mutacional, en la cual el precursor (ácido ciclohexanocarboxílico) se incorporó a una cepa mutante de *Streptomyces avermitilis* obteniéndose una AVM que difiere de IVM en cuanto a estructura química, por la presencia de un núcleo ciclohexilo a nivel de C<sub>25</sub> (Goudie *et al.*, 1993). Eprinomectin (EPM) es una AVM diseñada para administración tópica particularmente en ganado bovino lechero, que presenta como única diferencia química con IVM, un grupo acetilamino en la posición 4" del grupo disacárido (Shoop *et al.*, 1996). Moxidectin (MXD) (23-O-metiloxima-nemadectin), fármaco endectocida perteneciente a la familia de las milbemicinas (MBM) es producido por una combinación de fermentación y síntesis química. MXD se obtiene por modificación química de nemadectin, compuesto natural obtenido como producto de fermentación del actinomiceto *Streptomyces cyaneogriseus*. (Takiguchi *et al.*, 1980). Las lactonas macrocíclicas de ambas familias son fármacos de elevada liposolubilidad, solubles en la mayoría de los solventes orgánicos, con baja solubilidad en agua y sensibles a la luz ultravioleta. Estas drogas endectocidas comparten las propiedades físico-químicas generales, pero existen pequeñas diferencias en la estructura química entre AVM y MBM ó aún dentro de las AVM, que determinan cambios en el comportamiento farmacocinético, lo cual impacta sobre la eficacia y persistencia antiparasitaria de las mismas.

Los endectocidas producen parálisis en artrópodos y nematodos al incrementar la permeabilidad de la membrana celular para los iones cloruro (Cl<sup>-</sup>), con la resultante hiperpolarización y parálisis a nivel de la musculatura faríngea y somática de los parásitos. Los efectos paralíticos son mediados a través de canales de cloro ligados a GABA o glutamato. Sin embargo concentraciones considerablemente más altas son requeridas para los efectos mediados por GABA comparadas a las necesarias para abrir los canales de cloro ligados a glutamato. La alta afinidad de estas drogas estaría dada por la unión a las subunidades alfa de estos canales de cloro (Arena *et al.*, 1992; Cully *et al.*, 1994). De esta manera una parálisis a nivel de la musculatura faríngea y somática de los parásitos, dada por la apertura de los canales de cloro ligados al glutamato es propuesta como el principal mecanismo de acción (Martin *et al.*, 2002; Geary 2005). Además efectos inhibitorios a nivel del tracto reproductivo en las hembras podría explicar la reducción en la postura de huevos que se observa tras la acción de este tipo de fármacos en nematodos (Fellowes *et al.*, 2000). La información disponible hasta el momento sugiere que las MBM comparten el mismo mecanismo de acción con las AVM, aunque existen diferencias farmacodinámicas muy sutiles entre ambos grupos.

MXD presenta una mayor potencia farmacológica que se evidencia frente a su acción sobre cepas resistentes a IVM. Esta mayor potencia estaría dada por una mayor afinidad de MXD por las subunidades alfa del receptor de glutamato asociado a canales de cloro. Por otra parte, MXD tendría una menor afinidad por el transportador de membrana llamado glicoproteína-P (Prichard y Roulet, 2005). Dicho transportador actúa como una bomba de eflujo y su sobreexpresión en cepas de parásitos resistentes ha sido demostrada, y la menor afinidad de MXD por la glicoproteína-P, podría explicar alguna ventaja en su eficacia sobre nematodos resistentes a IVM en ovinos. La falta de actividad de las AVM y MBM sobre trematodos y cestodes se debe a la ausencia, o al menos a una menor trascendencia, de la transmisión mediada por ese tipo de canales de cloro en la coordinación neuromuscular de estos parásitos, en comparación con nematodos o artrópodos.

El comportamiento farmacocinético de estas moléculas difiere del resto de las drogas antiparasitarias, teniendo en cuenta la prolongada permanencia de concentraciones detectables en los diferentes tejidos del animal tratado. Existe una importante diferencia de solubilidad acuosa entre IVM (0,006-0,009 mg/ml) y MXD (4 mg/ml), lo que influye en la flexibilidad para preparar una formulación farmacéutica. Las formulaciones clásicas utilizadas por vía subcutánea consisten en una preparación de base no acuosa. La preparación clásica de IVM está basada en propilenglicol/glicerol formal 60:40. DRM viene formulada en una preparación de base oleosa (aceite de sésamo/oleato de etilo 90:10). El tipo de formulación farmacéutica afecta la velocidad de absorción que presentan MXD, IVM y DRM desde el sitio de administración subcutáneo en bovinos. El depósito de droga que se produce en el espacio subcutáneo tras la administración de DRM retarda el proceso de absorción, lo cual se refleja más lenta reflejándose en los valores de vida media de absorción y tiempo en alcanzar el pico de concentración plasmática (Lanusse *et al.*, 1997; Lifschitz *et al.*, 1999a). Una vez que estos fármacos se absorben desde el espacio subcutáneo y se encuentran en la circulación sistémica, la lipofilia de cada compuesto va a ser determinante para la distribución de los mismos hacia los diferentes tejidos, incluidos los sitios donde se encuentran los parásitos blanco. IVM, DRM y MXD son fármacos muy liposolubles lo que se correlaciona con la extensa distribución tisular hacia los diferentes tejidos del organismo, el cual es particularmente elevado para el caso de MXD. Las drogas endectocidas alcanzan elevadas concentraciones en tejidos de localización parasitaria como las mucosas abomasal e intestinal, piel y tejido pulmonar, siendo estas concentraciones significativamente mayores a las obtenidas en plasma, lo que resulta relevante para su eficacia y persistencia antiparasitaria (ver Lifschitz *et al.*, 1999b, 2000). Por otra parte, existe una importante correlación entre los perfiles de concentración de droga alcanzados en la circulación sistémica (plasma) y en diferentes tejidos de localización parasitaria. MXD es una molécula más liposoluble que IVM y DRM, lo cual impacta notoriamente en su patrón de distribución tisular y permanencia en el organismo del animal tratado. La elevada afinidad de los endectocidas por los lípidos facilita su depósito en el tejido adiposo, principalmente de hígado y grasa, el cual actúa como un reservorio de droga que es relevante para la persistencia de actividad antiparasitaria de estas drogas. MXD presenta una mayor persistencia de concentraciones con una extensa fase de eliminación por

contribución del depósito graso del fármaco. Esto explica las prolongadas vidas medias de eliminación descriptos para MXD en plasma y en diferentes tejidos, en relación a IVM y DRM (Lifschitz *et al.*, 1999b, 2000).

Estas moléculas endectocidas son mínimamente metabolizadas en rumiantes, siendo excretadas por bilis y materia fecal como droga madre sin modificar (más del 90 % de la dosis administrada) (Chiu *et al.*, 1990a; Afzal *et al.*, 1994). Las drogas endectocidas han mostrado ser sustratos del transportador proteico glicoproteína-P (P-gp) (Pouliot *et al.* 1997; Dupuy *et al.* 2001). En los mamíferos este transportador participa en los mecanismos de secreción biliar e intestinal, además de limitar su entrada al sistema nervioso central. La importancia de la secreción intestinal ha sido demostrada como mecanismo de eliminación de IVM (Laffont *et al.*, 2002). El uso de moduladores de la glicoproteína-P como verapamilo (Molento *et al.*, 2004), itraconazole (Ballent *et al.*, 2007) y loperamida (Lifschitz *et al.*, 2002) induce un significativo incremento en la disponibilidad de IVM y MXD en ovinos y bovinos. Estudios realizados en nuestro Laboratorio permiten concluir que la cinética de disposición de un sustrato del transportador la P-gp como es IVM, en los diferentes tejidos gastrointestinales estudiados, resulta notoriamente modificada por la presencia de diferentes moduladores de esta proteína transportadora, tanto bajo condiciones *in vitro* como *in vivo*. Esto confirma la importancia de la actividad de la P-gp sobre el proceso de secreción intestinal de esta droga. En este contexto, se ha incorporado la técnica de cámaras de Ussing para estudiar el transporte celular de fármacos en tejido intestinal de diferentes especies animales.

Otra importante vía de excreción de las moléculas endectocidas es a través de la glándula mamaria cuando son administradas a animales en lactación. El 5,5 % de la dosis de IVM es eliminada a través de la glándula mamaria en bovinos lecheros (Toutain *et al.*, 1990). IVM y DRM alcanzan similares o mayores concentraciones en leche, respecto a las obtenidas en plasma de ovinos y caprinos. El porcentaje de la dosis eliminada por leche está influenciado por el tenor graso de la misma. En ovinos lecheros de alta producción tratados con IVM y MXD, el elevado tenor graso de la leche (7,8%) determinó la presencia de mayores concentraciones en la misma respecto del plasma. Teniendo en cuenta la elevada eliminación por glándula mamaria, las AVM y MBM clásicas no están indicadas para ser utilizadas en animales productores de leche, aunque su uso «extra-label» es conocido en muchos países. Eprinomectin (EPM) es una 4''-epi-amino-avermectina formulada para aplicación pour-on, con un patrón de distribución plasma/leche diferente al de los compuestos clásicos. Mientras que la relación entre la disponibilidad leche/plasma es igual o mayor a 1 para IVM, MXD y DRM, en ovinos, caprinos y bovinos lecheros (Imperiale *et al.* 2004) la relación leche/plasma para EPM en bovinos, ovinos y caprinos tras el tratamiento pour-on fue entre 0,1 and 0,2 (Shoop *et al.* 1996; Alvinerie *et al.* 1999a; 1999b, Imperiale. *et al.*, 2004). Debido a su baja eliminación láctea con concentraciones máximas (C<sub>max</sub>) en leche que no superan los 4 ng/ml en bovinos, y teniendo en cuenta que el límite máximo de residuos (LMR) en leche es de 20 ng/g, EPM se recomienda para el tratamiento antiparasitario en bovinos lecheros sin período de descarte para la leche de animales tratados.

Dada las dificultades para el desarrollo de nuevas moléculas, la estrategia de la industria farmacéutica ha sido la incorporación de nuevas formulaciones de una misma droga y/o novedosos sistemas de liberación. Está bien documentado que el tipo de formulación farmacéutica influye el proceso de absorción de las drogas endectocidas desde el sitio de administración parenteral. Tras la administración de IVM en una formulación de base oleosa se produce una absorción retardada de la droga, así como un retardo en la eliminación comparado al tratamiento con la formulación clásica en base a propilenglicol/glicerol formal (60:40). Estas diferencias resultan en una mayor persistencia de concentraciones de IVM en los sitios de localización parasitaria luego de la administración de la formulación oleosa (Lifschitz *et al.*, 1999a). La utilidad práctica de este tipo de formulaciones de larga acción de endectocidas, en las que existe una eliminación retardada de droga que permite obtener mayores concentraciones en plasma y tejidos de localización parasitaria durante la fase de eliminación post-administración, lo cual puede impactar en forma diferente en la actividad sobre distintos tipos de parásitos internos y externos. Diferentes vías de administración han sido ensayadas para la administración de drogas endectocidas. En ovinos el tratamiento con IVM por vía oral resulta en una menor disponibilidad sistémica de droga en comparación con la vía subcutánea. La administración oral de MXD en ovinos resulta en una absorción más rápida y en un menor tiempo medio de residencia, respecto de la administración subcutánea (Imperiale *et al.*, 2004). La menor disponibilidad sistémica de IVM obtenida tras su administración oral, impacta en su eficacia sobre parásitos externos, por lo cual no se recomienda esta vía de administración para el tratamiento de la sarna. A su vez, luego de la administración subcutánea de IVM en ovinos, la persistencia de acción antiparasitaria sobre nematodos GI resulta más prolongada comparada a la obtenida tras el tratamiento por vía oral (Borgsteede, 1993). La menor disponibilidad de MXD e IVM tras la administración oral respecto de la administración subcutánea, se debe al alto porcentaje de unión al material particulado de la ingesta que tienen estas drogas, lo que limita la droga disponible para ser absorbida tras su administración por vía oral. La baja proporción de droga libre en el tracto GI se encuentra sometida a la acción de eflujo por parte del transportador celular proteico P-gp que limita su absorción.

La complejidad del tracto digestivo de los rumiantes y la funcionalidad del mismo pueden afectar notoriamente el comportamiento farmacocinético de diversas drogas utilizadas en medicina veterinaria. Un factor importante que puede modificar el proceso de absorción de drogas administradas por la vía oral es la motilidad del tracto gastrointestinal y por consiguiente la tasa de pasaje de la ingesta. La tasa de pasaje, definida como la medida del tiempo durante el cual los componentes de la ingesta están expuestos a los procesos de mezcla, digestión y absorción en el tracto GI, resulta uno de los principales factores que pueden alterar el comportamiento farmacocinético de drogas antiparasitarias. Factores de manejo (frecuencia y tipo de alimentación), ambientales (temperatura ambiente) y pertenecientes al animal (edad, condición corporal, etc), influyen la tasa de pasaje digestivo. Dentro de los factores dietarios, la cantidad de fibra de la dieta (tipo de dieta), así como la cantidad ingerida (el nivel de consumo alimenticio)

afecta la velocidad de pasaje del bolo alimenticio a lo largo del tracto gastrointestinal. Se ha demostrado que un incremento en la disponibilidad plasmática de IVM administrada por vía oral se puede obtener en ovinos alimentados con un bajo nivel alimenticio. El menor consumo alimenticio de los animales restringidos en su alimentación, determinaría una menor tasa de pasaje a nivel del tracto GI retardando su eliminación por materia fecal y favoreciendo el proceso de reciclado entero-hepático, lo cual aporta para explicar la mayor disponibilidad plasmática de IVM obtenida en los animales con restricción alimenticia (Ali y Hennessy, 1996). La composición corporal es otro factor a tener en cuenta en el uso de estas drogas tan liposolubles, particularmente con relación al contenido de tejido adiposo. Las diferencias en la composición corporal impactan directamente en la velocidad de absorción desde el sitio de administración subcutáneo, en el proceso de distribución tisular y fundamentalmente en el reservorio graso de estos fármacos. En estudios de valoración de residuos tisulares de MXD en ovinos, se observaron mayores concentraciones tisulares del fármaco (tejido adiposo, hígado) en animales de mayor peso corporal sacrificados a 49 días post-tratamiento en relación con animales de menor peso corporal sacrificados más tempranamente. La composición corporal puede influir en el comportamiento farmacológico de las drogas endectocidas y por lo tanto en la persistencia de su acción antiparasitaria.

El objetivo del tratamiento antiparasitario es que la droga activa alcance al parásito blanco en concentraciones adecuadas y por el período de tiempo necesario para generar su efecto farmacológico (interacción farmacodinámica), alterando la funcionalidad del mismo. Los diferentes géneros y/o estadios parasitarios tienen diversas localizaciones en el organismo animal que parasitan y tras un tratamiento con un fármaco antihelmíntico, estarán expuestos a las concentraciones de droga/metabolitos que se alcancen en sus respectivos tejidos/sitios de localización. La extensión del tiempo de exposición del parásito a la droga está determinada por la difusión de la misma desde la circulación sistémica hacia los distintos tejidos, es decir por el patrón de distribución tisular de dicho fármaco a los sitios donde se localizan los párasitos blanco. Las lactonas endectocidas son drogas de amplio espectro antiparasitario, que actúan sobre endo y ectoparásitos. Dado la prolongada permanencia que estos compuestos tienen en el organismo animal, es que con ellos surge el concepto de tiempo de *persistencia antiparasitaria*. Desde el punto de vista farmacológico, la eficacia y persistencia antiparasitaria dependen del comportamiento farmacocinético de estas drogas y particularmente de su distribución tisular. Cabe aclarar que la persistencia de acción antiparasitaria en ovinos se da tras la administración de cualquiera de las drogas endectocidas por vía inyectable y no así, luego de su administración oral. Los fármacos endectocidas poseen características cinéticas muy diferentes a cualquier otro tipo de drogas antiparasitarias, lo que sustenta esa actividad persistente entre 2 a 5 semanas post-tratamiento sobre nematodos y artrópodos según la formulación y/o droga administrada.

## Aspectos farmacológicos de la resistencia antihelmíntica

La intensificación de los sistemas de producción animal ha dado lugar a una dependencia casi exclusiva de la quimioterapia. El desarrollo de resistencia de diferentes géneros parasitarios a la acción de diversos grupos de sustancias químicas es una seria amenaza. La resistencia a fármacos se define como un estado de no susceptibilidad o susceptibilidad disminuida al efecto de una concentración determinada de un fármaco, que en condiciones normales causa inhibición del crecimiento o muerte celular. Las modificaciones genéticas (mutación, transferencia y/o amplificación génica) que confieren resistencia se traducen en diferentes modificaciones bioquímico-moleculares que son la base farmacológica de la disminución del efecto de un fármaco en la célula u organismo resistente. Estas alteraciones moleculares pueden ser: 1-Cambios celulares estructurales y/o funcionales que modifican la captación (llegada) de una droga al sitio de acción ó incrementan su metabolismo/inactivación y/o eflujo celular, afectando la capacidad de la droga para acumularse intracelularmente; 2-Alteración de sistemas enzimáticos necesarios para el efecto farmacológico de la droga; 3-Alteración en la estructura de receptores celulares que afectan la unión del fármaco con su sitio de acción y por lo tanto, su efecto farmacológico, ya sea por disminución en el número de receptores o en la afinidad de la molécula a los mismos; 4-Variaciones en diferentes procesos celulares que compensan o contrarrestan el efecto inducido por un fármaco (ver Figura 3).

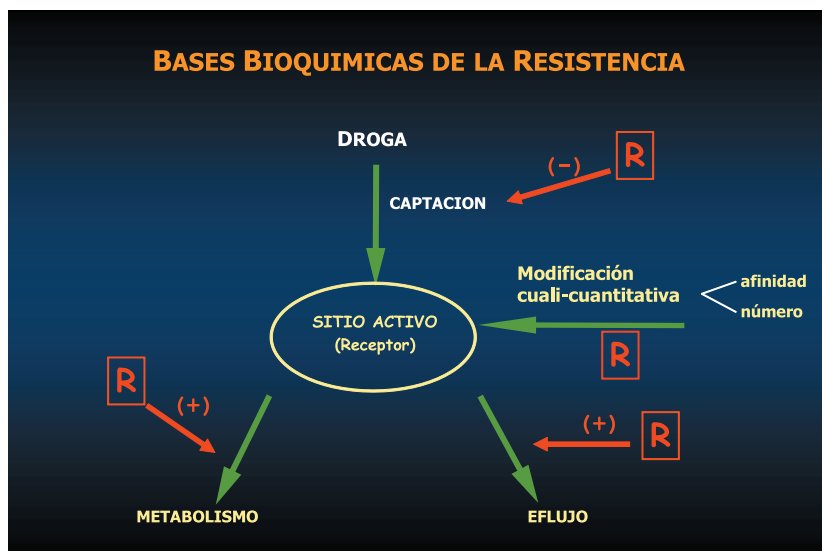


Figura 3: Procesos bioquímico-farmacológicos funcionales que sustentan el desarrollo de resistencia (R) en bacterias, parásitos y/o células tumorales.

El desarrollo de resistencia de diferentes géneros parasitarios a la acción de diversos grupos de sustancias químicas es una seria amenaza. El mecanismo de acción de un fármaco antihelmíntico determina el efecto sobre el parásito blanco y el riesgo para desarrollo de resistencia. La aparición de resistencia ha motivado el desarrollo de estudios farmacodinámicos que han contribuido a la comprensión de los mecanismos de acción de los fármacos antihelmínticos más utilizados: Benzimidazoles (BZD), Imidazotiazoles (levamisole) y Avermectinas y milbemicinas. Los BZD actúan ligándose a la tubulina, modificando el patrón de polimerización para la formación de los microtúbulos, lo que lleva a la alteración de diversas funciones celulares. La resistencia ocurre cuando mutaciones en los genes que codifican para la producción de tubulina causan la pérdida del receptor de alta afinidad. Levamisole actúa como agonista colinérgico sobre las membranas de las células musculares de los nematodos. Los mutantes resistentes a levamisole son deficientes en receptores para acetilcolina. Las avermectinas y milbemicinas actúan como agonistas de elevada afinidad sobre un receptor de glutamato asociado a canales de cloro (localizados mayoritariamente a nivel de la bomba faríngea y células musculares somáticas), lo cual origina la hiperpolarización de la neurona del parásito blanco (nematodos y artrópodos), inhibiéndose la transmisión de impulsos nerviosos. La resistencia a estos fármacos podría estar asociada a mutaciones en dos subunidades del canal de cloro y/o a la expresión aumentada del transportador glicoproteína P (P-gp), lo que impediría alcanzar concentraciones suficientes para activar el receptor de glutamato en el parásito resistente. La resistencia múltiple a drogas (MDR) es una resistencia cruzada inespecífica a drogas hidrofóbicas con diferente estructura química y mecanismo de acción, que penetran a las células por difusión pasiva y son eliminadas por mecanismos activos con gasto energético. Las células que tienen el fenotipo MDR expresan elevados niveles de P-gp. La resistencia se debe entonces a una disminución de la acumulación de la droga en el interior celular debido a un aumento en el eflujo de la misma (ver Figura 4). El grado de sobreproducción de P-gp se correlaciona bien con el grado de resistencia. En conclusión, la expresión exagerada de esta proteína transportadora y el aumento en la capacidad para remover drogas del citosol celular, caracterizan al fenotipo MDR y son las bases de esta resistencia cruzada inespecífica ampliamente demostrada en quimioterapia anticancerígena y que está siendo investigada como posible mecanismo bioquímico relacionado al fenómeno de resistencia antihelmíntica.

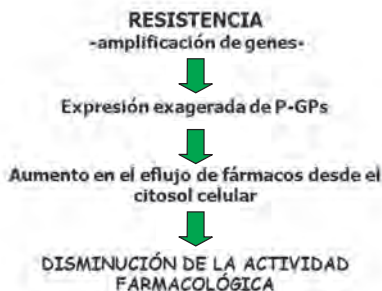


Figura 4: Secuencia de eventos representando como la sobre-expresión de la proteína excretora Glicoproteína- P (P-GP) en un parásito puede generar resistencia al efecto de un fármaco.



El desarrollo de resistencia parece ser una consecuencia inevitable del uso de los fármacos antiparasitarios a lo largo del tiempo y lleva implícito cambios genéticos que se heredan de generación en generación. Teniendo en cuenta que ninguna droga resulta 100% eficaz contra el 100% de las especies parasitarias durante el 100% de los tratamientos, cada vez que un antiparasitario es usado existen en la población individuos sobrevivientes al tratamiento, que contienen la información genética que aporta resistencia a ese tipo de droga. Una frecuencia intensiva de tratamientos aumenta la presión de selección, permitiendo que los individuos resistentes y sus progenies aumenten su proporción dentro de la población parasitaria, detectándose cuando la resistencia alcanzó niveles elevados y el tratamiento antihelmíntico resulta inefectivo. Existe descripción de casos de resistencia a IVM principalmente en nematodos de ovinos y caprinos y más recientemente en bovinos. La resistencia en ovinos y caprinos, originalmente en *H. contortus*, se ha extendido a otros géneros como *Teladorsagia circumcincta* and *T. colubriformis*. Además el uso intensivo de endectocidas, particularmente de IVM desde la aparición de diferentes formulaciones genéricas de este compuesto, resultó en un importante aumento en la presión de selección y en la aparición de los primeros reportes de resistencia a en nematodos de bovinos. Debe remarcar que en algunos casos, MXD mantiene la eficacia sobre nematodos resistentes a IVM lo que estaría basado en su mayor potencia farmacológica. Una disminución de la presión de selección, disminuyendo el número de tratamientos por año dentro de un sistema integrado de control antiparasitario es necesario para conservar la utilidad terapéutica de las drogas endectocidas en los diferentes sistemas de producción.

A pesar de los importantes avances alcanzados en la caracterización molecular y genética poblacional de la resistencia de parásitos a la acción de drogas antihelmínticas, tenemos aún muchas dificultades para proponer soluciones concretas, tendientes a frenar el desarrollo del fenómeno de resistencia en condiciones prácticas. La consideración de distintos aspectos epidemiológicos y medidas de manejo acordes al mismo, son también factores relevantes en la prevención de la aparición de resistencia y en la reversión de la ya existente. Conservar la susceptibilidad antihelmíntica en algunas poblaciones parasitarias es de fundamental importancia. Se deben admitir algunas pérdidas de producción debidas a parásitos para lograr el mantenimiento de dicha susceptibilidad. Es necesario desestimular aquellas estrategias que promuevan la reducción de las poblaciones de parásitos en el huésped y en el «refugio» a través de la aplicación sistemática de drogas. (ej. sistemas supresivos). Cuando la resistencia está presente no tiene sentido seguir utilizando la misma droga e incluso el mismo grupo químico a una frecuencia cada vez más alta. En general, la selección para resistencia ocurre con aquellos fármacos que alcanzan concentraciones que matan los parásitos susceptibles, pero permiten que sobrevivan parásitos con genes (heterocigotas u homocigotas) para resistencia. La subdosificación de antiparasitarios (por debajo de sus niveles de eficacia) dada entre otras causas por el uso de preparaciones farmacéuticas de baja calidad, inadecuado cálculo de peso y/o dosis, etc, favorecen la selección de parásitos resistentes (heterocigotas).

Lo ideal sería que dentro de la población parasitaria prevalezcan los homocigotas susceptibles y los heterocigotas, lo cual ayudaría a diluir los genes para resistencia, retardando el desarrollo de resistencia.

Debido al inmenso esfuerzo que significa el desarrollo de nuevas moléculas, resulta prioritario optimizar el uso de las drogas existentes. Aumentar la biodisponibilidad de droga activa es una estrategia farmacológica que coopera en la optimización del tratamiento y en retardar el desarrollo de resistencia. Toda herramienta farmacológica que permita aumentar la biodisponibilidad sistémica del fármaco antihelmíntico, posibilitará que mayores concentraciones de droga con una duración suficiente alcancen los sitios de localización parasitaria y puedan entrar en contacto con los helmintos blanco. Esta mayor biodisponibilidad permitirá que menor cantidad de parásitos que portan genes para resistencia dentro de la población puedan sobrevivir al tratamiento. Esto es aplicable a aquellos mecanismos de resistencia que dependan de la concentración del antihelmíntico. Como herramientas farmacológicas podemos citar: interferencia en el metabolismo y eliminación, y manejo de la alimentación (tipo y cantidad de dieta, ayuno pre/post tratamiento, etc.). Se puede modificar el comportamiento farmacocinético de las drogas disminuyendo el consumo alimenticio temporariamente previo al tratamiento antihelmíntico o ayunando ovinos y bovinos antes y después del tratamiento antihelmíntico. Esto retarda el tránsito gastrointestinal, prolongando la duración de la absorción gastrointestinal, y los procesos de eliminación biliar y reciclado enterohepático de los compuestos antihelmínticos, resultando en un aumento de la biodisponibilidad sistémica de los mismos. Recientemente se ha experimentado con éxito en el impacto que los sistemas transportadores pueden tener tanto a nivel de los mecanismos de excreción del fármaco en el hospedador como en la interferencia farmacológica para disminuir el eflujo del fármaco del parásito. Esto que se conoce como estrategia de modulación del eflujo de fármaco endectocidas (a través del uso de agentes moduladores de la P-gp) ha sido extensivamente investigado en nuestro Laboratorio (ver Figura 5). Algunos resultados de dichas estrategias científicas son promisorios dado el incremento que se obtiene en eficacia antihelmíntica frente a cepas de nematodos resistentes cuando IVM o MXD se combinan con loperamida (agente modulador de la actividad transportadora de la proteína transportadora P-gp (ver Lifschitz *et al.*, 2010).



Figura 5: Estrategias de estudio para comprender el rol de las proteínas transportadoras de fármacos en el hospedador y en el parásito blanco.

La rotación anual o combinación de compuestos antihelmínticos con diferente modo de acción y el uso de tan pocos tratamientos anuales como sea posible parecen ser las recomendaciones prácticas más viables en la actualidad, para disminuir el desarrollo de resistencia. A pesar de los intentos por introducir un control antiparasitario integrado, las medidas de control continúan siendo basadas, casi exclusivamente, en el tratamiento químico. Los tratamientos antihelmínticos supresivos frecuentes, las sub-dosificaciones y la falta de utilización intercalada de drogas de distinta clase, son las causas primarias que aumentan la presión de selección favoreciendo el desarrollo y diseminación de la resistencia antiparasitaria. La falta de integración entre medidas de manejo animal y tratamientos es un factor de alto riesgo en el desarrollo de resistencia.

La disponibilidad futura de nuevas moléculas con actividad antihelmíntica, se encuentra comprometida por el creciente costo requerido para el descubrimiento, investigación y desarrollo de compuestos químicamente diferentes. No obstante, en la última década se han generado estudios farmacológicos que involucran nuevas moléculas con potente actividad antiparasitaria: *Marcfortine* y *Paraherquamide* (antagonistas colinérgicos), *Ciclopepsipéptidos* (agonistas GABAérgicos y antagonistas colinérgicos), *Neuropéptidos (FaRP)* (efectos mio-moduladores en nematodos, trematodos y artrópodos) y más recientemente la identificación de los *derivados amino-acetonitrilo (AADs)* (con efecto de parálisis espástica actuando sobre una subunidad del receptor colinérgico específico de los nematodos). En ese contexto los recientes avances presentados sobre el descubrimiento de moléculas con mecanismos de acción diferentes y con actividad sobre nematodos resistentes a los grupos químicos disponibles son altamente promisorios. Esto incluye a: 1) El descubrimiento del *emodepside* (fármaco de la familia de los *Ciclopepsipéptidos*) que ha sido introducido para uso en felinos (Bayer Animal Health), pero que ofrece un enorme potencial para ser desarrollado para utilización en el tratamiento de nematodos resistentes a otros grupos químicos en animales rumiantes (Jeschke *et al.*, 2005; Harder *et al.* 2005). 2) La reciente identificación de la actividad antihelmíntica de los *derivados amino-acetonitrilo (AADs)* (Novartis Animal Health Inc.) (Kaminsky *et al.* 2008a), como una nueva clase de moléculas antihelmínticas que resultó en la reciente desarrollo del compuesto *monepantel* (Kaminsky *et al.* 2008b), ofrece un potencial farmacológico promisorio.

## Conclusiones

El uso de agentes químicos junto con medidas de manejo animal representan las principales medidas para el control antiparasitario en producción animal. El tratamiento antiparasitario se sustenta en que la droga activa alcance al parásito blanco para interactuar con sus receptores y desarrollar su efecto farmacológico. La cantidad de droga y la extensión del tiempo de exposición del parásito a la misma dependen de las características de los procesos farmacocinéticos de los diferentes tipos de fármacos. Existe una directa y, científicamente evidenciada, relación entre comportamiento cinético y eficacia/persistencia de la actividad antiparasitaria.

Más allá de la posibilidad futura de contar con nuevas moléculas con actividad antihelmíntica, el uso racional de químicos en el control antiparasitario es indispensable para asegurar un desarrollo productivo sustentable. Es claro que el trabajo interdisciplinario conjunto será crucial para proponer soluciones, que basadas en el conocimiento científico sobre el tema, puedan aportar alternativas para retardar el desarrollo de resistencia a los fármacos disponibles. El cuerpo de información de base farmacológica específica que se ha generado en nuestro Laboratorio a lo largo muchos años de trabajo, en forma complementaria a la generada en otros centros, significa una contribución de relevancia para la optimización del control antiparasitario en rumiantes. Una representación esquemática de los aspectos técnicos que sustentan la integración del conocimiento farmaco-parasitológico generado se presenta en la Figura 6.



Figura 6: Bases de la generación de conocimiento fármaco-parasitológico integrado. Aportes a la comprensión de la relación Fármaco-Hospedador-Parásito realizados desde nuestro Laboratorio de Farmacología Veterinaria, UNCPBA.

### Bibliografía sugerida

Se incluyen las referencias bibliográficas citadas en el texto y otras sugeridas como fuentes complementarias a la información descripta en este artículo.

-Alvarez, L.; Sánchez, S. & Lanusse, C. 1999. *In vivo* and *ex vivo* uptake of albendazole and its sulphoxide metabolite by cestode parasites: relationship with their kinetic behaviour in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 22,77-86.

- Alvarez, L.; Imperiale, F.; Sánchez, S. & Lanusse, C. 2000. Uptake of albendazole and albendazole sulfoxide by *Haemonchus contortus* and *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Parasitology* 94, 75-89
- Alvarez, L.; Mottier, M.; Sánchez, S. & Lanusse, C. 2001. *Ex vivo* diffusion of albendazole and its sulfoxide metabolite into *Ascaris suum* and *Fasciola hepatica*. *Parasitology Research* 87, 929-934.
- Alvarez, L.; Mottier, L. & Lanusse, C. 2007. Drug transfer into target helminth parasites. *Trends in Parasitology*, 23, 97-104.
- Alí, D. & Hennessy, D. 1996. The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition and efficacy of ivermectin in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, 89-94.
- Alvinerie, M.; Tardieu, D.; Sutra, J.F.; Bojensen, G. & Galtier, P. 1994. Metabolic profile of ivermectin in goats: an in vivo and in vitro evaluation. En *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Congress of European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology.*, pp 262.
- Alvinerie, M.; Sutra, J.; Galtier, P. & Mage, C. 1999a. Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following topical administration to lactating dairy cattle. *Research in Veterinary Science* 67, 229-232.
- Alvinerie, M.; Lacoste, E.; Sutra, J. & Chartier, C. 1999b. Some pharmacokinetic parameters of eprinomectin in goats following pour-on administration. *Veterinary Research Communications* 23, 449-455.
- Afzal, J.; Stout, S.; daCunha, A. & Miller, P.; 1994. Moxidectin: absorption, tissue distribution, excretion and biotransformation of Carbon-14-labeled moxidectin in sheep. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1767-1773.
- Arena, J.; Liu, K.; Paress, P.; Frazier, E.; Cully, D.; Mrozik, H. & Schaeffer, J.; 1995. The mechanism of action of avermectin in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding and biological activity. *Journal of Parasitology*, 81, 286-294.
- Ballent, M.; Lifschitz, A.; Virkel, G.; Sallovitz, J. & Lanusse, C., 2007. Involvement of P-glycoprotein on ivermectin availability in sheep: itraconazole-mediated enhancement of gastrointestinal disposition. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, 242-248.
- Bogan, J.; Marriner, S. & Delatour, P. 1982. Pharmacokinetics of levamisole in sheep. *Research in Veterinary Science* 32, 124-126.
- Borgsteede, F. 1993. The efficacy and persistent anthelmintic effect of ivermectin in sheep. *Veterinary Parasitology* 50, 117-124.

- Campbell, W. 1990. Benzimidazoles: veterinary uses. *Parasitology Today* 6, 130-133.
- Chen, W.; Terada, M. & Cheng, J. 1996. Characterization of subtypes of gamma-aminobutyric acid receptors in an *Ascaris* muscle preparation by binding assays and binding of PF1022A, a new anthelmintic, on the receptors. *Parasitology Research* 82, 97-101.
- Chiu, S.; Taub, R.; Sestokas, E.; Lu, A. & Jacob, T. 1987. Comparative *in vivo* and *in vitro* metabolism of ivermectin in steers, sheep, swine, and rat. *Drug Metabolism Reviews*, 18, 289-302.
- Chiu, S. & Lu, A.; 1989. Metabolism and tissue residues, pp. 131-143. En *Ivermectin and Abamectin*, Ed. Campbell, W., Springer-Verlag New York Inc., New York, USA,.
- Chiu, S.; Green, M.; Baylis, F.; Eline, D.; Rosegay, A.; Meriwether, H. & Jacob, T. 1990a. Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labelled ivermectin in cattle, sheep, and rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 2072-2078.
- Chiu, S.; Sestokas, E.; Taub, R.; Green, L.; Baylis, F.; Jacob, T. & Lu, A.; 1990. Metabolic disposition of ivermectin in swine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 2079-2085.
- Conder, G.; Johnson, S.; Nowakowski, D.; Blake, T.; Dutton, F.; Nelson, S.; Thomas, E.; Davis, J. & Thompson, D. 1995. Anthelmintic profile of the cyclodepsipeptide PF1022A in vitro and in vivo models. *Journal of Antibiotics* (Tokyo) 48, 820-823.
- Courtney, C. & Roberson, E. 1995. «Antinematodal drugs». In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 7<sup>th</sup>, edited by Adams, H. R. pp 885-1004. Ames, IA: Iowa State University Press, USA.
- Cully, D.; Vassilatis, D.; Liu, K.; Paress, P.; Vanderploeg, L. & Schaeffer, J. 1994. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 371, 707-711.
- Delatour, P.; Benoit, E.; Garnier, F. & Besse, S. 1990. Chirality of the sulphoxide metabolites of fenbendazole and albendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 13, 361-366.
- Dupuy, J.; Larrieu, G.; Sutra J.; Eeckhoutte C. & Alvinerie M. 2001. Influence of verapamil on the efflux and metabolism of <sup>14</sup>C moxidectin in cultured rat hepatocytes. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 24, 171-177.
- Fellowes, R.; Maule, A.; Martin, R.; Geary, T.; Thompson, D.; Kimber, M.; Marks, N. & Halton, D. 2000. Classical neurotransmitters in the ovjector of *Ascaris suum*: localization and modulation of muscle activity. *Parasitology* 121, 325-336.

- Fisher, M. & Mrozik, H. 1989. Chemistry. In: Campbell, W. (Ed.), Ivermectin and Abamectin, Springer, New York, USA, pp. 1–23.
- Geary, T. (1999). Frontiers in anthelmintic pharmacology. *Veterinary Parasitology*, 84: 275-295.
- Geary, T. & Thompson, D. 2003. Development of antiparasitic drugs in the 21st century. *Veterinary Parasitology* 115, 167-184.
- Geary, T.; Marks, N., Maule, A.; Bowman, J.; Alexander-Bowman, S.; Day, T.; Larsen, M.; Davis, J. & Thompson, D. 1999. Pharmacology of FMRamide-related peptides in helminths. *Annals of the New York Academy of Sciences* 897, 212-227.
- Geary, T. 2005. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. *Trends in Parasitology* 21, 530-532.
- Goudie, A.; Evans, N.; Gration, K.; Bishop, B.; Gibson, S.; Holdom, K.; Kaye, B.; Wlicks, S.; Lewis, D.; Weatherley, A.; Bruce, C.; Herbert, A. & Seymour, D. 1993. Doramectin, a potent novel endectocide. *Veterinary Parasitology* 49, 5–15.
- Harder, A. 2000. Chemotherapeutic approaches to nematodes: current knowledge and outlook. *Parasitology Research* 88, 272-277.
- Harder, A.; Holden-Dye, L.; Walker, R. & Wunderlich, F. 2005. Mechanisms of action of emodepside. *Parasitology Research* 97, 1-10.
- Hennessy, D. 1993. Pharmacokinetic disposition of benzimidazole drugs in the ruminant gastrointestinal tract. *Parasitology Today* 9, 329-333.
- Hennessy, D.; Steel, J.; Lacey, E.; Eagleson, G. & Prichard, R. 1989. The disposition of albendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 12, 421-429.
- Hennessy, D.; Sangster, N.; Steel, J. & Collins, G. 1993. Comparative pharmacokinetic behaviour of albendazole in sheep and goats. *International Journal for Parasitology* 23, 321-325.
- Hennessy, D.; Page, S. & Gottschall, D. 2000. The behaviour of doramectin in the gastrointestinal tract, its secretion in bile and pharmacokinetic disposition in the peripheral circulation after oral and intravenous administration to sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 23, 203-213.
- Imperiale, F.; Lifschitz, A.; Sallovitz, J. ; Virkel, G. & Lanusse, C. 2004b. Comparative depletion of ivermectin and moxidectin milk residues in dairy sheep after oral and subcutaneous administration. *Journal of Dairy Science* 71, 427-433.

- Jeschke, R.; Iinuma, K.; Harder, A.; Schindler, M. & Murakami, T. 2005. Influence of the cyclooctadepsipeptides PF1022A and PF1022E as natural products on the design of semi-synthetic anthelmintics such as emodepside. *Parasitology Research* 1, 11-6.
- Kaminsky, R.; Ducray, P.; Jung, M. & Clover, R. 2008a. A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature* 452, 176-180.
- Kaminsky R, Gauvry N, Schorderet Weber S, Skripsky T, Bouvier J, Wenger A, Schroeder F, Desaulles Y, Hotz R, Goebel T, Hosking BC, Pautrat F, Wieland-Berghausen S, Ducray P. 2008b. Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitology Research*, 103: 931-939.
- Kwa, M.; Veenstra, J. & Roos, M. 1994. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in  $\alpha$ -tubulin isotype 1. *Molecular and Biochemical Parasitology* 63, 299-303.
- Kwa, M.; Okoli, M.; Schulz-Key, H.; Okongkwo, P. & Roos, M. 1998. Use of P-glycoprotein gene probes to investigate anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* and comparison with *Onchocerca volvulus*. *International Journal for Parasitology* 28, 1235-490.
- Kwan, L.; Gyurik, R.; Freeman, J.; Chimes, N.; Ritch, G. & Theodorides, V. 1988. Influence of dosing regimens on the anthelmintic activity of albendazole in sheep. *Journal of Controlled Release* 8, 31-38.
- Lacey, E. 1990. Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today* 6, 112-115.
- Laffont, C.; Bousquet-Mélou, A.; Bralet, D.; Alvinerie, M.; Fink-Gremmels, J. & Toutain, P. 2003. A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. *Veterinary Research* 34, 445-460.
- Lanusse, C.; Ranjan, S. & Prichard, R. 1990. Comparison of pharmacokinetic variables for two injectable formulations of netobimin administered to calves. *American Journal of Veterinary Research* 51, 1459-1453.
- Lanusse, C.E.; Gascon, L.H.; Ranjan, S. & Prichard, R.K. 1992a. Morantel tartrate release from a long-acting intraruminal device in cattle: pharmacokinetics and gastrointestinal distribution. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 15, 117-23.
- Lanusse, C.; Nare, B.; Gascon, L. & Prichard, R. 1992b. Metabolism of albendazole and albendazole sulphoxide by ruminal and intestinal fluids of sheep and cattle. *Xenobiotica* 22, 419-426.



- Lanusse, C.E. & Prichard, R.K. 1993a. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Veterinary Parasitology* 49, 123-58.
- Lanusse, C. & Prichard, R. 1993b. Clinical pharmacokinetics and metabolism of benzimidazole anthelmintics in ruminants. *Drug Metabolism Reviews* 25, 235-279.
- Lanusse, C.; Gascon, L. & Prichard, R. 1995. Comparative plasma disposition kinetics of albendazole, fenbendazole, oxfendazole and their metabolites in adult sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 18, 196-203.
- Lanusse, C.; Lifschitz, A.; Sanchez, S.; Sutra, J.; Galtier, P. & Alvinerie, M. 1997. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20, 91-99.
- Lanusse C. (2009). Pharmacological challenges to achieve sustainable anthelmintic control in ruminants. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 32 (1), pp. 11-13.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Mastromarino, M. & Lanusse, C. 1997. Enhanced plasma availability of the metabolites of albendazole in fasted adult sheep. *Veterinary Research Communications* 21, 201-211.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Pis, A.; Imperiale, F.; Alvarez, L.; Kujanek, R. & Lanusse, C. 1999a. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. *Veterinary Parasitology* 86, 203-215.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Imperiale, F.; Galtier, P.; Lanusse, C. & Alvinerie, M. 1999b. Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition kinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 22, 266-273.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Sutra, J.; Galtier, P.; Alvinerie, M. & Lanusse, C. 2000. Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Veterinary Parasitology* 87, 327-338.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Sallovitz, J.; Imperiale, F.; Pis, A. & Lanusse, C. 2002. Loperamide-induced enhancement of moxidectin availability in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25, 111-120.
- Lifschitz, A.; Virkel, G.; Ballent M.; Pis, A.; Sallovitz, J. & Lanusse, C. 2005. Moxidectin and ivermectin metabolic stability in sheep ruminal and abomasal content. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 28, 411-418.
- Lifschitz A, Virkel G, Ballent, M., Sallovitz J, Lanusse C. (2009). Combined use of ivermectin and triclabendazole in sheep: *In vitro* and *in vivo* characterisation of their pharmacological interaction. *The Veterinary Journal*, 182: 261-268.

- Lifschitz A, Suarez VH, Sallovitz J, Cristel SL, Imperiale F, Ahoussou S, Schiavi C, Lanusse C. (2010). Cattle nematodes resistant to macrocyclic lactones: Comparative effects of P-glycoprotein modulation on the efficacy and disposition kinetics of ivermectin and moxidectin. *Experimental Parasitology*, PMID: 20109455.
- Martin, R. 1997. Modes of action of anthelmintic drugs. *The Veterinary Journal* 154, 11-34.
- Martin, J.; Robertson, A. & Wolstenholme, A. 2002. «Mode of action of macrocyclic lactones».. In *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy*, edited by Vercruysse, J. and Rew, R. pp. 125-140. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- McKellar, Q. & Scott, E. 1990. The benzimidazole anthelmintic agents- a review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 13, 223-247.
- Molento, M.; Lifschitz, A.; Sallovitz, J.; Lanusse, C. & Prichard, R. 2004. Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. *Parasitology Research* 92, 121-127.
- Montesissa, C.; Malvisi Stracciari, J.; Fadini, L. & Beretta, C. 1989. Comparative microsomal oxidation of febantel and its metabolite fenbendazole in various animal species. *Xenobiotica* 19, 97-100.
- Mottier, L.; Virkel, G.; Solana, H.; Alvarez, L.; Salles, J. & Lanusse, C. 2004. Triclabendazole biotransformation and comparative diffusion of the parent drug and its oxidized metabolites into *Fasciola hepatica*. *Xenobiotica*, 34, 1043-1057.
- Mousley, A.; Marks, N. & Maule, A. 2004a. Neuropeptide signalling: a repository of targets for novel endectocides?. *Trends in Parasitology* 20, 482-487.
- Mousley, A.; Marks, N.; Halton, D.; Geary, T.; Thompson, D. & Maule, A. 2004b. Arthropod FMRFamide-related peptides modulate muscle activity in helminths. *International Journal for Parasitology* 34, 755-768.
- Prichard, R. & Roulet, A. 2005. Moxidectin pharmacodynamics, and resistance mechanisms to macrocyclic lactones in lab and field strains of nematode parasites. Proceedings of the 20<sup>th</sup> International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 16-20 October. Christchurch, New Zealand.
- Pouliot, J.; L'Hereux, F.; Liu, Z.; Prichard, R. & Georges, E. 1997. Reversal of P-glycoprotein-associated multidrug resistance by ivermectin. *Biochemical Pharmacology* 53, 17-25.
- Roberson, E. & Courtney, C. 1995. «Anticestodal and trematodal drugs». In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 7<sup>th</sup>, edited by Adams, H. R. pp 885-1004. Ames, IA: Iowa State University Press, USA.

- Sánchez, S.; Alvarez, L. & Lanusse, C. 1997. Farmacodinamia y farmacocinética de closantel. *Veterinaria Argentina* 11, 31-40.
- Sánchez, S.; Alvarez, L. & Lanusse, C. 1997. Fasting induced changes on the pharmacokinetic behaviour of albendazole and its metabolites in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20, 38-47.
- Sangster, N. & Gill, J. 1999. Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitology Today* 15, 141-146.
- Sasaki, T.; Takagi, M.; Yaguchi, T.; Miyadoh, S.; Okada, T. & Koyama, M. 1992. A new anthelmintic cyclopeptide, PF1022A. *Journal of Antibiotics* 45, 692-697.
- Scott, E.; Kinabo, L. & McKellar, Q.. 1990. Pharmacokinetics of ivermectin after oral or percutaneous administration to adult milking goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 13, 432-435.
- Shoop, W.; Egerton, J.; Eary, C. & Suhayda, D. 1990. Anthelmintic activity of paraherquamide in sheep. *Journal of Parasitology* 76, 349-351.
- Shoop, W.L.; Egerton, J.R.; Eary, C.H.; Haines, H.W.; Michael, B.F.; Mrozik, H. et al., 1996. Eprinomectin: a novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle. *International Journal for Parasitology* 26, 1237-42.
- Solana, H., Rodriguez, J., Lanusse, C. (2001). Comparative metabolism of albendazole and albendazole sulphoxide by different helminth parasites. *Parasitology Research*, 87: 275-280.
- Solana H, Scarcella S, Virkel G, Ceriani C, Rodríguez J, Lanusse C. (2009). Albendazole enantiomeric metabolism and binding to cytosolic proteins in the liver fluke *Fasciola hepatica*. *Veterinary Research Communications*, 33: 163-173.
- Takiguchi, Y.; Mishima, H.; Okuda, M.; Terao, M.; Aoki, A.; Fukuda, R. 1980. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics: fermentation, isolation and physico-chemical properties. *Journal of Antibiotics* 33, 1120-1127.
- Toutain, P.; Alvinerie, M. & Galtier, P.; 1990. Plasma and milk kinetic of therapeutic doses of ivermectin for dairy cows, pp. 165-170.. En *Veterinary Pharmacology and Therapy in food producing animals*, Ed. Simon, F.; Lees, P.; Semjen, G.; University of Veterinary Science, Budapest.
- Virkel, G.; Lifschitz, A.; Pis, A. & Lanusse, C. 2002. *In vitro* ruminal biotransformation of benzimidazole sulphoxide anthelmintics: enantioselective sulphoreduction in sheep and cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25, 15-23.
- Virkel, G.; Lifschitz, A.; Sallovitz, J.; Pis, A. & Lanusse, C. 2004. Comparative hepatic and extrahepatic enantioselective sulfoxidation of albendazole and fenbendazole in sheep and cattle. *Drug Metabolism and Disposition* 32, 536-544.

-Virkel, G.; Lifschitz, A.; Sallovitz, J.; Pis, A. & Lanusse, C. 2006. Assessment of the main metabolism pathways for the flukicidal compound triclabendazole in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29, 213-223.

-von Samson-Himmelstjerna, G.; Harder, A.; Schnieder, T.; Kalbe, J. & Mencke, N. 2000. *In vivo* activities of the new anthelmintic depsipeptide PF 1022A. *Parasitology Research* 86, 194-199.

-Wolstenholme, A.; Fairweather, I.; Prichard, R.; von Samson-Himmelstjerna, G. & Sangster, N. 2004. Drug resistance in veterinary parasites. *Trends in Parasitology* 20, 469-476.

-Xiao, L.; Saeed, R. & Herd, R. 1996. Efficacy of albendazole and fenbendazole against *Giardia* infection in cattle. *Veterinary Parasitology* 61, 165-170.

-Zinser, E.; Wolf, M.; Alexander-Bowman, S.; Thomas, E.; Davis, J.; Groppi, V.; Thompson, D. & Geary, T. 2002. Anthelmintic paraherquamides are cholinergic antagonists in gastrointestinal nematodes and mammals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 25, 241-250.

## **Consideraciones especiales**

### **Balance del aporte disciplinar**

Considero oportuno aprovechar la distinción que me otorga la Academia para realizar un balance sobre la actividad académica realizada por nuestro grupo de trabajo. La investigación desarrollada ha permitido dar un salto cualitativo de envergadura en la implementación de estudios fármaco-parasitológicos integradores necesarios para la comprensión de aspectos moleculares cruciales que ayudan a lograr una optimización y uso sustentable del control químico del parasitismo en Producción Animal. Se ha generado información de base farmacológica que abarca desde aspectos moleculares básicos sobre la relación hospedador-fármaco-parásito, hasta la generación de investigación aplicada que permita optimizar la utilización terapéutica de drogas antiparasitarias en rumiantes. Este enfoque farmacológico integral, además de novedoso y original tanto para la Farmacología Veterinaria como Humana, es crucial para la optimización del control antiparasitario frente al preocupante crecimiento del fenómeno de resistencia, elemento crítico para el control sustentable del parasitismo en el futuro inmediato.

Los aportes científicos específicos se han llevado a cabo con una actividad complementaria en lo relacionado a la prestación de servicios de consultoría y en actividades de desarrollo tecnológico en el área específica de nuestra especialidad dentro de la Farmacología. Una fructífera y equilibrada relación entre las actividades de investigación realizadas en nuestro laboratorio y la prestación de servicios y/o desarrollos tecnológicos para la industria farmacéutica, ha sido lograda.

En el marco académico, el desarrollo de este Programa de Investigación llevó implícito una estrategia de formación de recursos humanos en el área. La estrategia se basó en la preparación de recursos con una sólida formación integral en docencia e investigación, y cuya continuidad laboral pueda estar dentro o fuera de la actividad académica. Tras haberse cumplido 18 años desde mi regreso al país (año 1992) luego de completar mi formación Doctoral en Canadá, considero necesario resaltar que la *formación de un equipo de investigación* con una definida «identidad temática» (donde en la actualidad trabajan más de 20 personas estables entre investigadores, becarios, doctorandos, etc), que ha alcanzado una notable inserción internacional dentro de la Farmacología Veterinaria, es la contribución más significativa alcanzada. Lo que fue una apuesta inicial orientada al desarrollo de un Laboratorio de Farmacología Veterinaria en la FCV, UNCPBA, con especial énfasis en la formación de recursos humanos en el área específica y otras relacionadas, tuvo un resultado altamente satisfactorio tal como se desprende de los antecedentes curriculares alcanzados por quienes hoy son mis discípulos y compañeros de trabajo. Sobre la base de la performance científica del grupo que nos permitió en pocos años ocupar un reconocido sitio de liderazgo mundial dentro de la «*Farmacología de las Drogas Antiparasitarias*», al aporte de la UNCPBA, a la interacción con la industria farmacéutica y al abanico de instituciones de ciencia y tecnología que han aportado recursos a nuestros proyectos, hoy contamos con personal altamente calificado y un laboratorio con la máxima capacidad técnico-metodológica.

## **Agradecimientos**

Como corolario de este artículo, motivado por la incorporación como miembro *Académico Correspondiente* de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, deseo expresar mi más sincero reconocimiento a dicha institución por haberme honrado con tal distinción. A su Presidente Dr. Carlos O. Scoppa por sus conceptuosas palabras en la apertura de la Sesión Pública Extraordinaria y a todos los miembros académicos que con su presencia y/o apoyo me hicieron sentir profundamente halagado. Merece mención especial mi Padrino de presentación frente a la Academia, el Dr. Eduardo J. Gimeno, quien resumió el derrotero de mi carrera académico-científica con un enorme grado de detalle producto de un minucioso trabajo de análisis, evidenciando a través de sus palabras el grado de compromiso profesional y personal que él puso en el proceso de mi incorporación como Académico.

Por otro lado, deseo reconocer todo el apoyo que la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Bs. As. y nuestra Facultad de Ciencias Veterinarias me brindaron a lo largo muchos años como alumno, graduado y docente-investigador. En el mismo sentido debo reconocer a las diferentes instituciones nacionales e internacionales de ciencia y tecnología que confiaron en nuestras propuestas aportando fondos para la formación de los recursos humanos, equipamiento del

laboratorio, desarrollo de proyectos, viajes, etc. Tal como lo expresé durante la Sesión Pública, «**la esencia de todo lo alcanzado reside en haber logrado conformar un EQUIPO de trabajo**». Con mucho orgullo aprovecho este espacio para reconocer la calidad humana y técnica de la gente que me acompañó desde el inicio de las actividades del Laboratorio tras mi regreso al país, deseando compartir este logro personal con cada uno de ellos/ellas, independientemente del rol/función que cumplen dentro del esquema de trabajo.

Agradezco a todos mis colegas, amigos, familiares y público en general que acompañó el desarrollo de la Sesión Pública Extraordinaria y a los que no pudiendo asistir me hicieron llegar calurosas y reconfortantes saluciones. Dejo un párrafo especial para documentar por escrito y a manera de testimonio (creo que por primera vez), lo que mi esposa *Diana* significa para mi carrera académica. La magnitud de su contribución a todo lo logrado en lo profesional se complementa con la hermosa familia (*Nazareno, Lautaro y Simón Pedro*) que supimos generar.