

## Revisión: Factores que regulan la eficacia y seguridad en el uso de lactonas macrocíclicas en caninos y felinos

### Review: Factors governing the efficacy and safety in the use of macrocyclic lactones in dogs and cats

Paula Mansilla<sup>1</sup> MV, DMCPA, Rubén Pérez<sup>2</sup> MV, MSc.

Recibido: 26-2-2015

Aceptado: 15-5-2015

#### Resumen

Las lactonas macrocíclicas (LMs) son fármacos altamente eficaces y seguros para el tratamiento de parasitos generadas por nemátodos y artrópodos en pequeños animales. Ellos ejercen su efecto sobre los receptores glutamato-cloruro del parásito a bajas concentraciones y a mayores dosis actúan sobre receptores del GABA. A pesar de ser fármacos seguros, no están exentos de generar toxicidad, ya sea por sobredosificación, interacción con otros fármacos o por un defecto genético que se presenta en ciertas razas de perros en las que una alteración en el gen ABCB1, resulta en la ausencia o codificación defectuosa de la glicoproteína- P (P-gp), una proteína de membrana constituyente de la barrera hematoencefálica (BHE) que impide el acceso o elimina fármacos desde el SNC. Las LMs, principalmente las avermectinas (AVMs) y en menor magnitud las milbemicinas (MBNs), son sustratos con alta afinidad por la P-gp. Por lo tanto, la ausencia de P-gp en la BHE como la que presentan ciertas razas de perros como el Collie, permite el paso de las LMs hacia el sistema nervioso central, generando signos clínicos de toxicidad. Aunque no existe tratamiento específico, una adecuada descontaminación y tratamiento de soporte son muy importantes para tratar la intoxicación. En algunos casos han resultados eficaces la administración de emulsión lipídica y antagonistas de GABA, como picrotoxina, pentilenetetrazol o sarmazenil, con los cuales se ha logrado en algunos casos contrarrestar o disminuir los signos clínicos asociados con la intoxicación.

**Palabras claves:** Lactonas macrocíclicas, toxicidad, glicoproteína-P.

#### Abstract.

The macrocyclic lactones (LMs) are highly effective and safe drugs for the treatment of parasitic diseases generated by nematodes and arthropods in small animals. They exert their effects on glutamate-chloride receptors of parasite at low concentrations and at higher doses act on GABA receptors. Despite being safe drugs, are not without generating toxicity, either by overdose, drug interactions or a genetic defect that occurs in certain breeds of dogs in which an alteration in the ABCB1 gene result in the absence or defective encoding of P-glycoprotein (P-gp), a membrane protein constituent of the blood brain barrier (BBB) that prevent the access or removes drugs from the CNS. The LMs mainly avermectins (AVMs) and to a lesser extent milbemycins (MBNs) are substrates with high affinity for P-gp. Therefore, the absence of P-gp at the BBB observed in certain breeds of dogs as Collie breed, allowing passage of the macrocyclic lactones to the CNS, inducing clinical signs of toxicity. Although there is no specific treatment, a suitable decontamination and supportive treatment are important for treating intoxication. In some cases, effective results have been obtained with the use of a lipid emulsion administration. Some success has been achieved with GABA antagonists such as picrotoxin, pentylenetetrazol or sarmazenil, to counteract or minimize clinical signs associated with intoxication.

**Key words:** Macrocylic lactones, toxicity, P-glycoprotein

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacología, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile

<sup>2</sup>Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia: Dr. Rubén Pérez F, Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Casilla 537, Chillán, Chile. Tel: 56 42208826; Fax: 56 42276760. E-mail: [rpbperez@udec.cl](mailto:rpbperez@udec.cl)

#### Introducción

Las lactonas macrocíclicas (LM) son productos de fermentación microbiana capaces de combatir una amplia gama de parásitos en distintas especies animales, incluyendo aquellos que afectan a caninos y felinos. Existen dos familias de LM, las avermectinas (AVMs) y las milbemicinas (MBNs). Son fármacos de amplio espectro y elevada potencia antiparasitaria que se usan para el control de parásitos internos y externos (nemátodos y artrópodos) de las diferentes especies animales, razón por la cual se les denomina endectocidas. En bajas concentraciones (nM) ejercen su efecto sobre los receptores glutamato-cloruro (GluCl) del parásito y a mayores dosis (uM) también actúan sobre receptores del ácido gamma amino butírico (GABA). Las LMs ejercen una acción selectiva sobre canales de glutamato-cloruro (Glu-Cl) ubicados en las estructuras neuronales del parásito. Estos receptores Glu-Cl son específicos para los invertebrados y están ausentes en los vertebrados. A consecuencia de la interacción entre las LMs y sus receptores, se produce inhibición del bombeo faríngeo (y con ello se inhibe la ingestión de alimento), de la motilidad y la fecundidad de los nemátodos parásitos. En los vertebrados, las neuronas sensibles a GABA están restringidas al SNC y están protegidas de la acción de las LMs por la glicoproteína-P (gp-P), una proteína de membrana de las células endoteliales de los capilares que componen la barrera hematoencefálica (BHE), característica que le confiere un amplio margen de seguridad. La gp-P está ampliamente distribuida en los tejidos del organismo, sobretodo cumple un rol muy importante en los procesos de absorción, distribución y eliminación de fármacos.

Las LMs se encuentran dentro de los antiparasitarios más seguros y prescritos para uso humano y animal. Sin embargo, no están exentas de generar toxicidad, ya sea por sobredosificación, uso conjunto con otros fármacos o por un defecto

genético que se presenta en ciertas razas de perros y cruzas de ellas que tienen una codificación defectuosa del gen ABCB1 que resulta en la ausencia gp-P en la BHE. Esta ausencia de gp-P lleva a la acumulación de las LMs en el sistema nervioso central y a un mayor riesgo de efectos adversos, producto de la interacción de estos fármacos con los receptores de GABA, al ser expuestos a concentraciones tóxicas de fármaco. Aun no existe tratamiento específico, sin embargo, una adecuada descontaminación y tratamiento de soporte son muy importantes para tratar la intoxicación por estos fármacos. En algunos casos han resultado eficaces la administración de emulsión lipídica y antagonistas de GABA, como picrotoxina, pentilenetetrazol y sarmazenil, para contrarrestar o disminuir los signos clínicos asociados con la intoxicación,

En la presente revisión se analizarán los principales aspectos relacionados con la eficacia, seguridad y toxicidad de las LMs y su uso en la clínica de pequeños animales.

Estructura y propiedades fisicoquímicas de las LMs.

Las avermectinas (AVMs) y sus análogos estructurales las milbemicinas (MBNs), son compuestos orgánicos que comparten un origen común (*Streptomyces*) y una misma estructura molecular denominada "lactona macrocíclica", de la que derivan un mecanismo de acción común y propiedades farmacológicas similares, con una elevada eficacia sobre nemátodos y artrópodos de las diferentes especies animales<sup>1,2,3</sup>. A la familia de las AVMs pertenecen: abamectina (ABM), ivermectina (IVM), doramectina (DRM) y eprinomectina (EPM)<sup>4</sup>. Las milbemicinas, son LMs de 16-carbonos, descubiertas inicialmente como potentes miticidas e insecticidas, lo que posteriormente dio origen a compuestos con actividad antihelmíntica como la moxidectina (MXD), que presenta características de mecanismo de acción, potencia y de actividad antiparasitaria muy similar al grupo de las AVMs<sup>1</sup>.

La estructura química de estos fármacos corresponde a un anillo macrocíclico lactona de 16 átomos de carbono, similar a la de los antibióticos macrólidos (pero sin efecto bacteriano), unida a un grupo benzofurano (C2 - C8) y a un anillo espiroquetal (C17 - C25)<sup>1,2,3</sup> Según su estructura química, las lactonas macrocíclicas se clasifican en dos familias, según la presencia (avermectinas) o ausencia (milbemicinas) de un grupo disacárido adherido a la posición C13 sobre el anillo macrociclo lactona común. Por su parte, las milbemicinas tienen insaturado el carbono 25. Son moléculas de gran tamaño y alto peso molecular: de 600 kDa para las MBNs y 800 kDa las AVMs<sup>3,5</sup>.

A pesar de que desde el punto de vista químico-estructural todos estos fármacos comparten un núcleo de lactona macrocíclica similar, que explica un mecanismo de acción común, presentan importantes diferencias estructurales entre ellas. Así por ejemplo, la DRM se diferencia de la IVM por presentar un sustituyente ciclohexil en el carbono 25 del núcleo lactona<sup>6</sup>. Mientras que MXD, se diferencia de las AVMs en que no posee una molécula de disacáridos en el C-13 y en el C-25 tiene una cadena lateral insaturada<sup>7</sup>. Estas diferencias fisicoquímicas pueden producir diferencias en la solubilidad y en la disposición cinética de estos compuestos en el organismo de los animales. Estas diferencias explican las variaciones observadas en la eficacia y persistencia de la actividad antihelmíntica sobre las especies de parásitos que afectan a los animales domésticos<sup>8</sup>.

#### Avermectinas.

Las AVMs son compuestos naturales y/o semisintéticos derivados del hongo *Streptomyces avermitilis* de cuya fermentación se obtienen 8 componentes (4 pares homólogos): 4 compuestos que se obtienen en mayor proporción denominados: avermectina A1a, A2a, B1a y B2a, y otros 4 productos recuperados en menor proporción (A1b, A2b, B2a y B2b)<sup>9</sup> (Prichard et al., 2012). A este grupo pertenecen la abamectina,

ivermectina, doramectina, eprinomectina y selamectina, compuestos que comparten características estructurales y físicas químicas similares, junto con presentar un mecanismo de acción común<sup>10</sup>.

La abamectina, también llamada avermectina B1a, es el producto natural obtenido de la fermentación del *S. avermitilis*, es el compuesto precursor del cual se obtiene la ivermectina, de la que difiere solamente por la presencia de un doble enlace en los carbonos 22 y 23. Contiene >80% de avermectina B1a y <20% de avermectina B1b<sup>5</sup>.

Químicamente, la ivermectina es el análogo semisintético de la abamectina, conteniendo un 80% de 22,23-dihidroavermectina B1a y no más de un 20% de 22,23-dihidroavermectina B1b<sup>9</sup>. Se define también a la ivermectina, como el derivado desmetilado de la avermectina b1<sup>10</sup>. Las propiedades físico químicas de la ivermectina incluyen un alto peso molecular y una elevada lipofilicidad, las que le confieren características farmacocinéticas de un alto volumen de distribución, gran afinidad por la grasa corporal y prolongada persistencia de sus concentraciones en el organismo<sup>3,10</sup>.

La doramectina es un derivado de la avermectina A1a, de estructura y espectro similar a la ivermectina, sin embargo, tiene algunas diferencias en su estructura química que le confieren disponibilidad plasmática por un período más prolongado que la ivermectina. Su nombre químico es 25-ciclohexil-5-O-demetyl-25-(1-metilpropil)-avermectina A1a<sup>9</sup>.

La selamectina es un derivado semisintético de la doramectina. Su nombre químico es 25-ciclohexil-25-de (1-metilpropil)-5-desoxi-22,23-dihidro-5-[hidroxímino] avermectina A1a, su peso molecular es 770 kDa<sup>11</sup>.

#### Milbemicinas.

Son LMs obtenidas del *Streptomyces hygroscopicus* como la milbemicina oxima

mientras que la moxidectina es un derivado semisintético de la nemaedectina producido por la fermentación del *Streptomyces cyanogriseus* subespecie *noncyanogenus*<sup>7,9</sup>. La moxidectina se diferencia de la ivermectina debido a que no tiene el grupo disacárido unido al carbono 13 y por tener insaturado el carbono 25<sup>5,11</sup>.

Eficacia antiparasitaria de las LMs en perros y gatos

En general las LMs son efectivas contra dos grandes grupos de parásitos: nemátodos y artrópodos<sup>11</sup>. La ivermectina es la LM de mayor difusión y utilización en las diferentes especies de animales en todo el mundo; por lo tanto, es la molécula que más se ha estudiado con respecto a sus características farmacodinámicas y farmacocinéticas<sup>8</sup>.

La ivermectina es altamente eficaz contra estados adultos, larvas en desarrollo y estados inhibidos de todos los nemátodos parásitos importantes de las diferentes especies animales. Tiene eficacia sobre los parásitos de bovinos, ovinos, caprinos, equinos, porcinos, aves, perros y gatos. Tiene también una acción ovicida, por supresión de los procesos reproductivos de los parásitos<sup>12</sup>. Dentro de las especies de nemátodos de perros y gatos sobre los cuales ejerce una acción eficaz se encuentran: *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxascaris leonina*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma basiliense*, *Uncinaria stenocephala* y *Trichuris vulpis*<sup>11</sup>. Se utiliza para tratar la sarna en pequeños animales, aunque se ha probado que *Demodex canis* requiere concentraciones más elevadas y un mayor tiempo que *Sarcoptes scabiei* para ser eliminado. Por su parte, *Notoedres cati*, *Otodectes cynotis* y *Cheyletiella* sp resultan muy sensibles a la ivermectina y es posible lograr mejorías rápidas con pocas dosis subcutáneas<sup>9</sup>.

La ivermectina no es efectiva en el control de las pulgas, al menos cuando se aplica por vía subcutánea y a intervalos de una semana.

Tanto las AVMs, como MBNs son

usadas a bajas dosis para la prevención y control de la dirofilariosis (*Dirofilaria immitis*) canina y felina. Estos fármacos se encuentran entre los productos más seguros prescritos para uso en animales<sup>13</sup>. El uso mensual de ivermectina, selamectina, milbemicina oxima o moxidectina permite prevenir la infección por dirofilariosis en perros<sup>11</sup>. La ivermectina se utiliza como fármaco de elección para el tratamiento de la filariasis humana<sup>14</sup>.

La selamectina es una lactona macrocíclica de uso tópico y es la única eficaz contra las pulgas (*Ctenocefalides felis* y *C. canis*) a la dosis terapéutica normal empleada muestra eficacia contra el gusano del corazón (*Dirofilaria immitis*) y ácaros productores de sarna como *Otodectes cynotis* y *Sarcoptes scabiei*. También muestra cierta eficacia contra algunas especies de garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*) que afectan a los perros y gatos<sup>9</sup>.

La moxidectina es la lactona macrocíclica que presenta mayor eficacia sobre las garrapatas, ya que es muy liposoluble, lo que hace que se distribuya de mejor forma sobre la piel<sup>15</sup>. La milbemicina oxima se usa principalmente en el tratamiento de otitis generadas por ácaros en gatos y como prevención y tratamiento de la dirofilariasis<sup>16</sup>.

Formulaciones de LM para uso en animales menores

La presentación de ivermectina en el mercado es variada y se puede encontrar como solución inyectable, pour on y pasta para su uso en animales mayores, o bien como comprimidos masticables para perros y gatos<sup>16</sup>. A pesar que en nuestro país no existe la formulación para uso en pequeños animales, es común que se utilice la formulación inyectable al 1% formulada para rumiantes, administrándose, tanto vía oral como subcutánea<sup>17</sup>.

La moxidectina se puede encontrar como formulación oral, pour-on y solución inyectable para bovinos y equinos. En su formulación para pequeños animales se

encuentra como preparación tópica, solución inyectable y tabletas. La milbemicina oxima se encuentra como tabletas masticables solas o combinadas con praziquantel y como solución ótica para su uso en gatos<sup>16</sup>.

La doramectina está disponible para uso en animales mayores, tanto inyectable al 1%, como pour-on al 0,5%. En animales menores se comercializa en forma de comprimidos y pour on mezclado con imidacloprid<sup>11</sup>.

La selamectina es una avermectina semisintética desarrollada específicamente para uso en perros y gatos. Es un endectocida de uso tópico en una formulación spot-on al 6% y 12% de uso exclusivo en especies menores.

A pesar de existir reportes de uso experimental en perros y gatos, no hay presentaciones para uso en pequeños animales de eprinomectina<sup>16</sup>.

#### Mecanismo de acción de las LM

No es posible asignar un único mecanismo de acción con el cual las LM actúan sobre los parásitos, pero se describe que su principal efecto está dado por la estimulación de los receptores glutamato-cloruro a bajas dosis; a dosis mayores estimula los receptores de ácido gamma-aminobutírico (GABA), que es un importante neurotransmisor del sistema nervioso de los parásitos. Ambos efectos generan la apertura de los canales de cloruro facilitando la entrada de iones cloro a las neuronas, produciendo una hiperpolarización sostenida de las células nerviosas que resulta finalmente en parálisis y muerte del parásito<sup>11</sup>.

También, la unión a los receptores GABA post-sinápticos de las células nerviosas de nemátodos y artrópodos, produce un efecto inhibitorio debido a una hiperpolarización de las células musculares, produciendo una parálisis flácida del parásito. Esta acción sobre los receptores GABA, se produce en la unión entre los nervios ventrales y motores, produciendo una incoordinación y expulsión del parásito desde el huésped. Además,

se produce una marcada reducción en la oposición de las hembras parásitas<sup>11</sup>.

En los mamíferos, las neuronas sensibles al GABA se limitan al SNC y están protegidos de la exposición a la ivermectina por la presencia de una proteína de membrana de la barrera hematoencefálica denominada glicoproteína P (gp-P), haciéndola segura para uso en una amplia gama de mamíferos. En cambio, en los parásitos invertebrados como los nemátodos y artrópodos, a diferencia de los mamíferos, las neuronas sensibles a la ivermectina están ampliamente distribuidas en el organismo. En los mamíferos, la ausencia de cualquier protección dependiente de gp-P a nivel de la BHE, la exposición a ivermectina genera una parálisis tónica, letargia y puede producir finalmente la muerte del animal<sup>18</sup>.

#### Farmacocinética de las LM

Las LM son compuestos de alto peso molecular y con características lipofílicas muy particulares que les confieren propiedades farmacocinéticas y de espectro notoriamente diferentes a otros fármacos antihelmínticos. El comportamiento farmacocinético de cada LM depende de la formulación, la vía de administración utilizada y la especie animal a la cual se administra<sup>10</sup>.

En general las LM tienen una absorción oral relativamente rápida, en cambio presentan una tasa de absorción mucho más gradual luego de la aplicación subcutánea<sup>16</sup>. La pobre solubilidad de ivermectina en agua favorece la retención del fármaco en el sitio de inyección cuando se administra vía subcutánea, actuando como un depósito de fármaco que retarda la absorción y favorece una mayor permanencia en el organismo<sup>8</sup>.

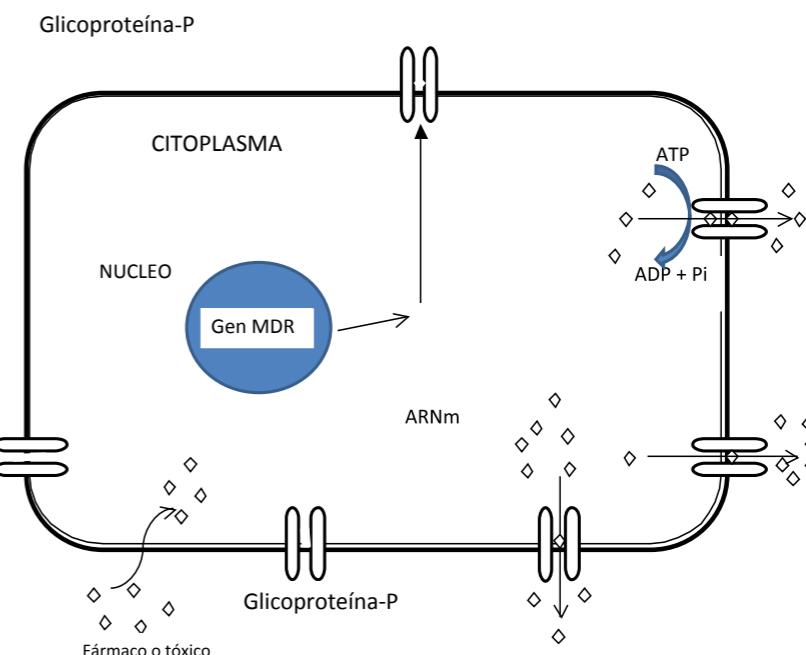
La farmacocinética de la ivermectina es similar tanto en perros como en gatos. Ambas especies presentan una cinética dosis dependiente, es decir, cuantitativamente el valor de los parámetros farmacocinéticos se incrementa en proporción directa a la dosis administrada. Presenta una elevada

biodisponibilidad, lo que permite emplear dosis similares aun cuando se administre por vías de oral o parenteral<sup>19,20</sup>.

Cuando se administra ivermectina por vía oral en perros sus concentraciones máximas en el plasma se alcanzan aproximadamente en 4 horas (T<sub>max</sub>= 4 horas). En cambio, la absorción subcutánea es más lenta, con T<sub>max</sub> de 32 a 36 horas en perros y cerca de 28 horas en gatos. La vida media de eliminación tras la administración oral de ivermectina en perros es de 3,3 días, en tanto que después de la administración subcutánea, la vida media es de 3,2 días en perros y 3,4 días en gatos<sup>16</sup>.

En perros la administración oral doramectina alcanza niveles sanguíneos máximos en 2 horas con una vida media de eliminación de 3 días. Mientras que cuando se administra vía subcutánea la C<sub>max</sub> se alcanza en 1,4 días y la vida media es de 3,7 días<sup>16</sup>.

La selamectina, es un derivado de la doramectina, constituye el más reciente descubrimiento desarrollado y comercializado dentro del grupo de las LM, sobre la base de



**Figura 1.** Esquema simplificado de la estructura y función de la gp-P. La porción central de la molécula es un canal o poro a través del cual los productos químicos tóxicos se bombean de nuevo hacia la circulación. Los productos químicos tóxicos pueden entrar en los poros de transporte, ya sea desde el interior de la célula o a través de su membrana (Edwards et al., 2003).

la no aparición de efectos adversos tras su administración en perros Collies sensibles a ivermectina. Su empleo se considera seguro en hembras gestantes y en fase de lactancia, puede utilizarse en perros a partir de los 2 meses de edad. Hasta ahora es considerado como un fármaco muy seguro, solo se describe que el 1% de los gatos presenta alopecia en el sitio de aplicación, asociada en ocasiones a procesos inflamatorios<sup>11,20</sup>.

La selamectina es una LM de uso tópico en perros y gatos. Se administra sobre la piel (spot-on) en dosis de 6 a 12 mg/kg donde es absorbida hacia la sangre y se distribuye a los diferentes tejidos. Se distribuye selectivamente hacia las glándulas sebáceas de la piel desde donde forma reservorios para su acción sobre pulgas, acaros y garrapatas. Tras la exposición cutánea, los niveles sanguíneos máximos se alcanzan a las 72 horas en perros y 15 horas en gatos. Si se administra por vía oral el T<sub>max</sub> es de 8 horas en perros y 7 horas en gatos. La vida media de eliminación en perros es de 11,1 días después de la exposición tópica y de 1,9 días después de la administración por vía oral. En gatos, la vida media es de 8,25

días después de la exposición tópica y de 1,1 días por vía oral<sup>16</sup>. La biodisponibilidad de la selamectina tras su aplicación tópica es de 4% en el perro y de 74% en el gato, lo que se atribuye a un mayor paso de fármaco a través de la piel (flujo transdérmico). También se atribuye a ingesta oral a través del lamido por el comportamiento de limpieza presente en los gatos. Algunos autores atribuyen esta mayor biodisponibilidad a una menor concentración de gp-P intestinal en ésta especie que puede contribuir a una menor eliminación del fármaco<sup>20</sup>.

La moxidectina se absorbe por diferentes vías debido a que es muy liposoluble, se considera más lipofílica e hidrofóbica que la ivermectina, se distribuye ampliamente en los tejidos. Se elimina por vía biliar realizando el ciclo enterohepático. Se acumula en el lumen intestinal y en tejidos como grasa y piel. Su afinidad por el tejido cutáneo permite su uso como ixodícidio con buenos resultados<sup>15</sup>. La moxidectina se absorbe más rápidamente que la ivermectina tras la administración oral, con un Tmax de 2 a 3 horas en perros, alcanzando una biodisponibilidad del 90%. La vida media de eliminación en esta especie fluctúa entre 13,9 a 25,9 días<sup>16</sup>.

Una proporción importante de las LMs puede eliminarse por leche en animales en lactancia. Cualquiera sea la ruta de administración, más del 95% de la dosis de ivermectina es excretada en las heces, mientras que el remanente se elimina por la orina y la leche<sup>10</sup>. La eprinomectina tiene la particularidad de poder ser usada en animales de producción durante la lactancia, ya que su eliminación por la leche es 1/50 veces menor que la ivermectina<sup>11</sup>. En perros y gatos no existe información específica en relación a la cantidad de metabolitos de las LMs eliminados por la orina, bilis o leche<sup>16</sup>.

**Rol de la glicoproteína-P en la farmacocinética de las LMs.**

La glicoproteína-P (gp-P) es un complejo lipoproteíco de membrana con un peso molecular de 170 kDa, compuesto

por dos mitades simétricas y homólogas que actúan en forma coordinada como una unidad única<sup>21</sup>. La gp-P actúa a nivel celular como una bomba extractora mediante un mecanismo de transporte activo dependiente de la hidrólisis del ATP (Figura 1). Se describe que los fármacos pasan a través de un poro hidrofóbico formado por un dominio de transmembrana y que la salida de los compuestos requiere de un cambio conformacional dependiente de energía<sup>22</sup>. La gp-P pertenece a la superfamilia de las ATP-binding cassette y es codificada por el gen ABCB1, también denominado MDR1<sup>23</sup>.

La gp-P constituye un sistema de detoxificación natural que se expresa en varios tejidos normales, asociados con funciones secretoras o de barrera. Se ha encontrado en canalículos biliares, conductos pancreáticos, intestino delgado e intestino grueso, túbulos proximales del riñón, glándula adrenal, placenta y en las células endoteliales del SNC y del testículo<sup>22</sup>.

La gp-P fue descubierta originalmente en ratones deficientes de esta proteína. Estos animales mostraron una acumulación de IVM en el cerebro resultando en neurotoxicidad<sup>24</sup>. El mismo mecanismo ha sido propuesto para explicar la sensibilidad a las LMs de bovinos de raza Murray Gris<sup>25</sup> y posteriormente descrito en perros de raza Collie<sup>18,26</sup>.

La BHE está compuesta por células endoteliales de capilares cerebrales unidas por uniones estrechas que forman una barrera física de carácter lipofílico que limita el transporte pasivo de sustancias hacia el cerebro. Mientras la permeabilidad de la BHE a los fármacos es dependiente de la lipofilicidad de éstos, se han identificado varias proteínas de transporte que regulan la penetración de diversos compuestos pobremente lipofílicos. Controversialmente, muchas sustancias altamente lipofílicas, tales como la ciclosporina A y la ivermectina muestran una baja penetración a través de la barrera hematoencefálica. Se cree que este fenómeno es consecuencia de

un sistema de transportadores de eflujo o bombeo hacia afuera (efflux transporters). Mediante caracterización molecular se han identificado varias proteínas de transporte presentes en las células endoteliales de los capilares del cerebro, entre ellas la gp-P es la que ha sido más ampliamente estudiada. La gp-P se expresa en la membrana apical de las células epiteliales del cerebro y está orientada a bombear sustratos nocivos desde el interior de las células hacia la circulación periférica. También la gp-P es responsable de limitar la penetración en el cerebro de una gama de compuestos de diferentes clases terapéuticas<sup>14</sup>.

La gp-P también se encuentra en el epitelio intestinal limitando la absorción y difusión transepitelial lo cual perjudica la absorción oral de las LMs. Sin embargo, este mecanismo puede ser rápidamente saturado, sobretodo en casos de sobredosis, permitiendo que ellas ingresen a la circulación<sup>23</sup>.

Se ha demostrado que las LMs presentan entre ellas diferencias de afinidad por la gp-P. Así por ejemplo, se ha demostrado que moxidectina y selamectina tienen una menor afinidad por la gp-P que la ivermectina<sup>27</sup>. Un estudio realizado en ratones comparó la afinidad de ivermectina y moxidectina, demostrándose que ivermectina presenta una mayor afinidad por gp-P en comparación a moxidectina<sup>28</sup> (Kiki-Mvouaka et al., 2010). Estudios posteriores confirmaron estos resultados, demostrándose además que abamectina, ivermectina, doramectina y eprinomectina tienen mayor afinidad por la gp-P en comparación con selamectina y moxidectina<sup>29</sup>.

#### Toxicidad de las Lactonas Macroscíclicas

La ivermectina se considera un fármaco potente y bastante seguro, y aunque las dosis terapéuticas pueden llegar tan solo a 0,4 mg/kg, la dosis oral más elevada que no ha mostrado ejercer efectos adversos es de 2 mg/kg en perros y de 0,75 mg/kg en

gatos. Sin embargo, es conocido que perros de raza Collie y otras razas emparentadas, son especialmente susceptibles a la acción tóxica de la ivermectina, observándose efectos adversos con dosis de 0,1 mg/kg y la muerte con 0,2 mg/kg<sup>20</sup>.

La susceptibilidad de las diferentes especies animales a la acción tóxica de la ivermectina, y LMs en general, está asociada a una mayor penetración de fármaco hacia el SNC<sup>30</sup>. Sin embargo, en la mayoría de las especies de mamíferos presenta un amplio margen de seguridad en dosis normales de uso, dado que no atraviesa la BHE<sup>12</sup>. Por lo tanto, la toxicidad que se observa tras la administración de dosis terapéuticas de ivermectina en animales susceptibles, se explica por una falla o ausencia de gp-P en la BHE ocasionada por una mutación en el gen ABCB1 que codifica esta proteína<sup>14</sup>.

Dentro de las reacciones adversas a medicamentos se distinguen aquellas producidas por sobredosis (intoxicación), de las que ocurren por administración de dosis terapéuticas (reacción de idiosincrasia)<sup>20</sup>.

#### Reacciones de toxicidad de tipo idiosincrásicas

Un estudio realizado en perros de raza Collie por Mealey en el año 2001<sup>26</sup>, demostró que estos animales presentan una mutación en el gen ABCB1. Esta mutación consiste en una delección de 4 pares de bases en el gen conocida como ABCB1-1Δ, que da como resultado un cambio en el cuadro de lectura que genera un codón de detención prematura en la traducción del código genético, lo que resulta en una gp-P severamente truncada y no funcional<sup>26</sup>. Mediante el uso de primers caninos específicos, Roulet et al. en el año 2003<sup>18</sup>, fueron capaces de documentar la primera secuencia completa del ADN complementario (ADNc) del gen ABCB1 procedente de un perro Collie sensible a ivermectina.

Se ha demostrado la asociación entre individuos portadores del gen mutado (-/-) y la marcada toxicidad a la ivermectina,

moxidectina y doramectina, entre otros fármacos reconocidos como sustratos de gp-P. También se ha visto que aquellos individuos con mutación de carácter heterocigoto no manifiestan sensibilidad a la ivermectina, a pesar de tener una copia del gen ABCB1 mutado  $[+/-]$ <sup>26,31,32</sup>. Estos individuos, aunque no manifiestan los efectos adversos luego de la administración de ivermectina, son portadores del gen mutado y pueden transmitirlo a su descendencia. Por eso, se señala que la sensibilidad a la ivermectina es un carácter heredable de forma autosómica y recesiva. A este tipo de toxicidad se la conoce como toxicidad idiosincrática<sup>33</sup>.

Las mutaciones del gen ABCB1 también pueden afectar a la excreción biliar y renal de fármacos y puede dar lugar a reacciones adversas en los descendientes heterocigotos  $[+/-]$ <sup>34</sup>.

Diversos estudios han determinado la frecuencia de perros de raza Collie que serían portadores del alelo mutante. Así, en Estados Unidos se comprobó que de 40 animales estudiados, un 35% (14 perros) eran homocigóticos para el alelo mutante, mientras que un 42% (17 animales) eran heterocigóticos, concluyendo que un elevado porcentaje podría presentar reacciones adversas a la ivermectina. Otro estudio realizado en Francia, de un total de 83 perros de raza Collie muestreados los porcentajes de animales homocigóticos y heterocigóticos

fueron 48 y 32%, respectivamente<sup>32</sup>.

En Australia se estudió la frecuencia del alelo mutante en las siguientes razas: Collie, Pastor Australiano, Border Collie y Shetland cuyos resultados se muestran en la Tabla 1. Doce por ciento (4/33) de los Collies estudiados eran homocigotos para el alelo normal (normal  $+/+$ ), el 64% (21/33) fueron heterocigotos (portadores  $+/-$ ) y el 24% (8/33) eran homocigotos para el alelo mutante (afectados  $-/-$ ). Treinta y seis por ciento (5/14) de los pastores australianos estudiados eran homocigotos para el alelo normal, el 43% (6/14) fueron heterocigotos y el 21% (3/14) eran homocigotos para el alelo mutante. Tres de los siete perros de raza Shetland fueron heterocigotos para la mutación, y cuatro eran homocigotos para el alelo normal. En los 7 perros Border Collie considerados en el estudio no se encontró la mutación para el gen ABCB1<sup>35</sup>.

Otro estudio realizado en Alemania, en un número de 1500 perros, se obtuvieron resultados similares a los encontrados anteriormente en otros países. La frecuencia de homocigotos mutados fue mayor en Collies (33%), seguido por los de raza Pastor australiano (6,9%) y Shetland (5,7%). Los resultados se muestran en la Tabla 2<sup>31</sup>.

**Tabla 1:** Genotipos para el gen ABCB1 en distintas razas de perros de Australia (Adaptado de Mealey et al., 2005).

RAZA	GENOTIPO (porcentaje de animales)			Total [Nº de animales]
	+/+	+/-	-/-	
<b>Collie</b>	4	21	8	33
<b>Pastor australiano</b>	5	6	3	14
<b>Border Collie</b>	7	0	0	7
<b>Shetland</b>	4	3	0	7

**Tabla 2.** Genotipos para el gen ABCB1 en distintas razas de perros de Alemania (Adaptado de Geyer et al., 2005).

RAZA	GENOTIPO (Porcentaje de animales)			Total
	+/+	+/-	-/-	
<b>Collie</b>	23,9	43,1	33	578
<b>Shetland</b>	45,7	48,6	5,7	140
<b>Pastor australiano</b>	67,9	25,2	6,9	333
<b>Border Collie</b>	99,1	0,6	0	334
<b>Bobtail</b>	87,5	12,5	0	24
<b>Waller</b>	62,9	37,1	0	62

En Japón en el año 2005 se determinó la frecuencia de esta mutación en ocho razas de perros. Los autores ampliaron las razas de perros investigadas, incluyendo grupos diferentes al de los perros pastores como Golden Retriever y Labrador Retriever, Dachshund y 2 razas de origen japonés: Shih Tzu y Shiba. Los porcentajes de animales que presentaban el alelo mutante fue muy elevado en el Collie (58,3% de 12 animales) y el Pastor Australiano (33,3% de 9 animales), siendo de 1,2% en el Shetland (42 animales). En el resto de las razas evaluadas no se encontró este alelo<sup>32</sup>.

En un estudio realizado en Bélgica en el año 2009, los resultados indicaron que la mutación del gen ABCB1-1Δ estaba presente en las razas Pastor australiano, Collie, Pastor de Shetland y Pastor blanco suizo, pero no se detectó en los Bearded collies, Border collies y Pastor Aleman de este estudio, similar a los hallazgos encontrados en las poblaciones de otros países<sup>36</sup>.

#### Reacciones de toxicidad debidas a sobredosis.

El ingreso de cantidades elevadas de ivermectina en el encéfalo puede ocurrir también en individuos con gp-P funcional. Esto se debe, fundamentalmente, a que el sistema de bombeo de la gp-P es un sistema saturable. Dosis elevadas de ivermectina pueden saturar la gp-P y la fracción libre atravesar la barrera hematoencefálica.

A este tipo de toxicidad se la conoce como toxicidad dosis dependiente<sup>16</sup>.

Una de las principales causas de intoxicación aguda es por la ingestión de jeringas que contienen ivermectina<sup>37</sup> o moxidectina<sup>38</sup> en su formulación en pasta para caballos. Aunque menos frecuentes, también se describen casos de intoxicación producidos por la inyección subcutánea de la formulación de ivermectina al 1% para uso en bovinos<sup>17</sup>.

Reacciones de toxicidad debidas a interacciones entre fármacos.

El otro mecanismo por el cual las LMs pueden generar toxicidad es al administrarlas conjuntamente con otros fármacos sustratos de la gp-P, ya que estos podrían competir con ivermectina en el sitio de unión a esta proteína, generando una inhibición de tipo competitivo, favoreciendo así el ingreso de ivermectina al encéfalo, lo que predispone a la aparición de signos de toxicidad en el SNC. Por lo tanto, no es recomendable administrar simultáneamente LM con otros fármacos que son sustratos de la gp-P. Por ejemplo, se ha demostrado que en ratones el uso conjunto de ivermectina con ciclosporina A, genera un aumento en las concentraciones de ivermectina, acompañado de aumento de la neurotoxicidad por ivermectina<sup>14</sup>. El ketoconazol, uno de los medicamentos de uso común en pequeños animales que es capaz

de interactuar con la gp-P, también puede generar problemas de toxicidad al ser usado en conjunto con ivermectina<sup>16</sup>.

#### Sintomatología en la toxicidad de las Lactonas Macroscíclicas

Los síntomas clínicos de la intoxicación con LM son consecuencia de una concentración excesiva del fármaco en el sistema nervioso central y del consiguiente aumento de la actividad GABA. Las LMs estimulan la liberación de GABA en las neuronas presinápticas y aumentan la fijación postsináptica del GABA a sus receptores. Esto aumenta el flujo de iones de cloro en la célula y provoca una hiperpolarización de la membrana celular, lo que a su vez produce una reducción de las funciones nerviosas y un bloqueo general de los mecanismos excitatorios en el SNC. Es por esto que los signos se relacionan generalmente con la disminución de la actividad neuronal en el SNC e incluyen depresión neurológica, ataxia, midriasis, ceguera, temblores, salivación excesiva y a medida que avanza la depresión, se puede llegar al estado de coma y muerte<sup>37,39</sup>. En ocasiones también se pueden presentar convulsiones. En el caso de ivermectina se ha observado ceguera, que generalmente es temporal y se ha asociado con edema de retina y anomalías en el electrorretinograma. Los signos son similares tanto en perros como gatos y son comunes para todas las LMs. Dependiendo de la dosis y la raza involucrada y debido a la prolongada vida media de estos agentes, la intoxicación puede persistir durante días o semanas<sup>16</sup>.

Los pacientes genéticamente susceptibles a ivermectina, y a las LMs en general, pueden identificarse mediante técnicas de biología molecular utilizando PCR. También, algunos autores sugieren administrar 0,05 mg/kg vía subcutánea a modo de "dosis prueba", si aparecen midriasis o ataxia en un período de 24 horas, el paciente se debe considerar sensible al medicamento<sup>20</sup>.

#### Tratamiento en la toxicidad de las Lactonas

#### Macrocíclicas

No existen antídotos específicos 100% eficaces y seguros para tratar la intoxicación con LMs. Una apropiada descontaminación y tratamiento de sostén son los pilares fundamentales del tratamiento. Algunos pacientes deben ser hospitalizados por varios días. Sin embargo, es posible lograr una recuperación completa incluso en animales severamente afectados<sup>16</sup>.

En animales intoxicados con dosis orales se recomienda la inducción del vómito, siempre y cuando no hayan pasado más de 30 a 60 minutos. También se puede usar carbón activado, dentro de las 4 horas post exposición, antes del comienzo de los signos neurológicos, con dosis cada 8 horas. Se deben tener en cuenta los riesgos asociados al uso de carbón activado, como hipernatremia y neumonía por aspiración<sup>16</sup>.

Como terapia de sostén para estos pacientes es esencial el uso de fluidoterapia y mantener la termorregulación. Si existe depresión respiratoria, los pacientes van a requerir de intubación, aporte de oxígeno y/o conexión a ventilación a presión positiva. El soporte nutricional parenteral también puede ser necesario. Cuando se desarrolla bradicardia, es útil el uso de una dosis pre anestésica de atropina<sup>16</sup>.

Hay estudios que muestran que la terapia intravenosa con emulsión lipídica es un tratamiento que puede acortar la duración de los signos clínicos de la intoxicación por LM. Se describe su uso en un Jack Russel Terrier de 16 semanas intoxicado con moxidectina, el cachorro se recuperó más rápido que lo reportado en otros casos de toxicidad por moxidectina, aunque no se sabe la cantidad exacta de fármaco que ingirió el cachorro<sup>16</sup>. También se describe su uso en un Border Collie intoxicado con una dosis mayor a 6 mg/kg de ivermectina. Los autores demostraron que con el uso de la emulsión lipídica se observó una disminución de los niveles de ivermectina en la sangre y una mejora relativamente rápida de los síntomas

clínicos. El perro de este caso no tenía la mutación ABCB1-1Δ, que puede ser la razón por la cual la terapia parece ser más efectiva, ya que la capacidad de la gp-P para eliminar la ivermectina del SNC hacia la circulación estaba intacta en este paciente<sup>40</sup>. En cambio, cuando se administró el mismo tratamiento en 3 perros homocigotos recesivos para la mutación del gen ABCB1-1Δ, la terapia no fue eficaz<sup>41</sup>.

El mecanismo de acción de la emulsión lipídica endovenosa es desconocido, pero se postula que actuaría como una esponja, es decir, producto del alto contenido en lípidos de la emulsión que circula en el torrente sanguíneo captaría en mayor proporción de tóxico, lo que provocaría una inmediata movilización del depósito tisular hacia la circulación, y reduciría su concentración en el SNC, aumentando la concentración en el plasma con lo cual se facilita su distribución hacia órganos que eliminan el fármaco. En definitiva, lo que haría la emulsión lipídica es modificar el volumen de distribución del tóxico<sup>40</sup>.

La administración de la emulsión lipídica se recomienda en una solución al 20%, comenzando con un bolo de 1,5 ml/kg vía endovenosa seguido por una infusión constante de 0,25 ml/kg/min durante 30 a 60 minutos, que se puede repetir cada 4 horas, siempre y cuando el suero no se vea lipémico. El tratamiento debe suspenderse si no se ve una respuesta positiva después de 3 tratamientos seguidos<sup>16</sup>.

También se describe el uso experimental de fármacos antagonistas de receptores de GABA en mamíferos como el pentilenetetrazol, picrotoxina y sarmazenil para contrarrestar los efectos de la intoxicación con LM. Su acción la ejercerían bloqueando los efectos inhibitorios de la estimulación GABAérgica, acrecentando así, la excitabilidad del SNC<sup>17,38,42</sup>.

La picrotoxina y el pentilenetetrazol han sido utilizados en intoxicaciones con ivermectina en perros con resultados

favorables. En un caso de intoxicación de un perro Collie adulto, la picrotoxina fue administrada como infusión endovenosa en dosis de 1 mg/kg en una dilución al 0,1% en dextrosa isotónica, observándose una mejoría a los 8 minutos de comenzada la infusión, momento en que se detuvo la administración del fármaco, 24 horas post tratamiento el perro comenzó a caminar y beber agua por sí solo, recuperándose completamente el día 7 post tratamiento<sup>42</sup>. En un caso de intoxicación de una perra Boxer adulto por sobredosificación con ivermectina, se usó 1 mL de pentilenetetrazol en solución al 10% vía oral cada 6 horas. Luego del cuarto tratamiento con la misma dosis, los síntomas de la depresión extrema, flacidez, parálisis muscular y ataxia cedieron y la perra que se encontraba postrada, orinó, tomo agua, presentó buen apetito y deambuló sin dificultad<sup>17</sup>.

Más recientemente, en el año 2005, se reporta un caso de intoxicación por sobredosis de moxidectina en una potranca de 13 días de edad. El tratamiento consistió en la administración endovenosa de sarmazenil, un antagonista de receptores GABA, en dosis de 0,04 mg/kg cada 2 horas durante 10 horas. Luego de la tercera dosis el animal comenzó a sostener su cabeza por si sola y desde ahí fue mejorando su condición hasta que a las 48 horas post tratamiento los signos clínicos se resolvieron completamente<sup>38</sup>. A pesar de que este tratamiento se realizó en la especie equina, el mecanismo de acción y forma de generar toxicidad es similar en todas las especies mamíferas, por lo que este fármaco sería una nueva alternativa para tratar la intoxicación con LMs en pequeños animales. La falta de disponibilidad de estos fármacos en nuestro medio dificulta su uso en el tratamiento de intoxicación por LMs.

En conclusión, aunque las LMs son fármacos seguros y bien tolerados, su administración puede dar lugar a efectos tóxicos, bien como consecuencia de la sobredosificación o por una reacción idiosincrática producto mayor susceptibilidad

genética que condiciona una hiperreactividad a estos compuestos. Dado que no hay antídoto específico y las alternativas se reducen al tratamiento sintomático, es importante conocer los posibles efectos tóxicos derivados de su uso y, más aún, cuando se emplea en especies distintas, o para indicaciones diferentes, a aquellas en las que están autorizadas. A pesar de la mayor susceptibilidad que algunas razas de perros presentan a estos fármacos, moxidectina y ivermectina son las LMs que al ser utilizadas en las dosis terapéuticas no generan toxicidad aún en razas genéticamente sensibles a estos fármacos.

#### Agradecimientos. Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT 1130473.

#### Referencias bibliográficas

1. Fisher MH, Mrozik H. The chemistry and pharmacology of avermectins. *Ann Rev Pharmacol*; 1992, 32: 537-553.
2. Steel JW. Pharmacokinetics and metabolism of avermectins in livestock. *Vet Parasitol*; 1993, 48: 45-57.
3. Shoop WL, Mrozik H, Fisher MH. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Vet Parasitol*; 1995, 59: 139-156.
4. Baggot JD, McKellar QA. The absorption, distribution and elimination of anthelmintic drugs: the role of pharmacokinetics. *J Vet Pharmacol Therap*; 1994, 17: 409-419.
5. McKellar, Benchaoui QA. Avermectins and milbemycins. *J Vet Pharmacol Therap*; 1996, 19: 331-351.
6. Goudie AC, Evans NA, Gration KAF, Bishop BF, Gibson SP, Holdom KS, Kaye B, Wicks SR, Lewis D, Weatherley AJ, Bruce CI, Herbert A, Seymour DJ. Doramectin a potent novel endectocide. *Vet Parasitol*; 1993, 49: 5-15.
7. Zulalian J, Stout SJ, DaCunha AR, Garcés T, Miller P. Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of moxidectin in cattle. *J Agric Food Chem*; 1994, 42: 381-387.
8. Lanusse C. Comparative pharmacokinetics of anthelmintic drugs in ruminants - updated integration of current knowledge. *J. Vet. Pharmacol. Therap*; 2003, 26 (Suppl. 1): 42-47.
9. Prichard R, Ménez C, Lespine A. Moxidectin and the avermectins: Consanguinity but not identity. *Int J Parasitol: Drugs Drug Resist*; 2012, 2: 134-153.
10. Pérez R. Lactonas macrocíclicas: avermectinas y milbemicinas. En: San Andrés M, Boggio JC. Antimicrobianos y Antiparasitarios en Medicina Veterinaria. 2007. Editorial Intermédica S.A.I.C.I., Buenos Aires, Argentina; 2007: 583-606.
11. Vercruyse J, Rew R. Macrocylic Lactones in Antiparasitic Therapy. CABI publishing (1° ed.). New York, USA; 2002: 1-29.
12. Campbell WC, Benz GW. Ivermectin: a review of efficacy and safety. *J Vet Pharmacol Therap*; 1984, 7:1-16.
13. McCall J. The safety- net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: A review, an update, and recommendation. *Vet Parasitol*; 2005, 133(2-3):197-206.
14. McCall J. The safety- net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: A review, an update, and recommendations. *Vet Parasitol*; 2005, 133:197-206.
15. Rodríguez- Vivas R, Arieta- Román R, Pérez-Cogollo L, Rosado- Aguilar J, Ramírez- Cruz G, Basto- Estrella G. Uso de Lactonas macrocíclicas para el control de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en el ganado bovino. *Arch Med Vet*; 2010, 42: 115- 123.
16. Merola V, Eubig P. Toxicology of avermectins and milbemycins [macrocyclic lactones] and the role of P-glycoprotein in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*; 2012, 42: 313-333.
17. Riquelme M, Pérez R. Un caso de intoxicación por ivermectina en perro y su tratamiento con pentilenetetrazol. *Arch Med Vet*; 1994, 26: 105-110.
18. Roulet A, Puel O, Gesta S, Lepage J, Drag M, Soll M, Alvinerie M, Pineau T. MDR1-deficient genotype in collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur J Pharmacol*; 2003, 460: 85-91.
19. Díaz M, Espuny A, Escudero E, Carceles C. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas (ii). *An Vet (Murcia)*, 2000, 16: 15-40.

20. Isea G, Rodriguez I, Urdaneta R. Antihelminticos en perros y gatos. Un enfoque farmacológico y toxicológico. *Revista centro veterinario (AMVAC)*; 2011, 48: 14-20.
21. Loo TP, Clarke DM. Determining the structure and mechanism of the human multidrug resistance P-glycoprotein using cysteine-scanning mutagenesis and thiol-modification techniques. *Biochim Biophys Acta*; 1999, 146: 315-325.
22. Fromm MF. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends Pharmacol Sci*; 2004, 25:423-429.
23. Ballent M, Lifschitz A, Virkel G, Lanusse C. Implicancias fisiofarmacológicas de la glicoproteína- Pen animales domésticos. *Analecta Vet*; 2005, 25: 36- 47.
24. Schinkel AH, Smitt JJ, Van Tellingen O, Beijnen JH, Wagenaar E, Van Deemter L, Mol CA, Van der Valk MA, Robamus-Mandag E C, te Riele HP, Berns AJM, Borst P. Disruption of the mouse mdr 1a P-glycoprotein gene lead to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drug. *Cell*; 1994, 77: 491-502.
25. Seaman JT, Eagleson JS, Carrigan MJ, Webb RF. Avermectin B1 toxicity in a herd of Murray Grey cattle. *Aust Vet J*; 1987, 64: 284-285.
26. Mealey. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the mdr1 gene. *Pharmacogenetics*; 2001, 11:727-33.
27. Lespine A, Martin S, Dupuy J, Roulet A, Pineau T, Orlowski S, Alvinerie M. Interaction of macrocyclic lactones with P-glycoprotein: structure-affinity relationship. *Eur J Pharm Sci*; 2007, 30:84-94.
28. Kiki-Mvouaka S, Ménez C, Borin C, Lyazrhi F, Foucaud-Vignault M, Dupuy J, Collet X, Alvinerie M, Lespine A. Role of P-glycoprotein in the disposition of macrocyclic lactones: A comparison between ivermectin, eprinomectin, and moxidectin in mice. *Drug Metab Dispos*; 2010, 38:573- 80.
29. Lespine A, Alvinerie M, Vercruyse J, Prichard RK, Geldhof P. P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: Prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance. *Internat J Parasitol: Drugs and Drug Resistance*; 2012, 2, 58-75.
30. Enna, SJ, Gallager JP. Biochemical and electrophysiological characteristics of mammalian GABA receptor. *International Rev Neurobiol*; 1985, 24: 181-182.
31. Geyer J, Doring B, Godoy J, Leidolf R, Moritz A, Petzinger E. Frecuency of the nt230 (del4) MDR1 mutation in collies and related dog breeds in Germany. *J Vet Pharmacol Ther*; 2005, 28: 545- 51.
32. González- Canga A, Fernández- Martínez N, Sahagún- Prieto A, García- Vieitez J, Diez M, Tamame- Martín P, Sierra- Vega M. Seguridad de la ivermectina: toxicidad y reacciones adversas en diversas especies de mamíferos. *Rev MVZ*;2010, 15: 2127- 35.
33. Neff M, Robertson K, Wong A, Safra N, Broman K, Slatkin M, Mealey K, Pedersen N. Breed distribution and history of canine mdr1- 1Delta, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA*; 2004, 101: 11725- 30.
34. Sherman J. Understanding the impact of P-glycoprotein mutation on canine health. *Vet J*; 2011, 190:13-4.
35. Mealey K, Munyard K., Bentjen S. Frecuency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensibity in a simple of herding breed dogs living in Australia. *Vet Parasitol*; 2005, 131: 193- 6.
36. Erkens T, Daminet S, Rogiers C, Gommeren K, Lampo E, Vander Donckt D, Van den Broeke A, Van Poucke M, Van Zeveren A, Peelman L. Presence of the ABCB1 (MDR1) deletion mutation causing ivermectin hypersensitivity in certain dog breeds in Belgium. *Vlaams Diergen Tijds*; 2009, 78: 256-60.
37. Hopkins KD, Marcelle KL, Strecker AE. Ivermectin toxicosis in a dog. *J Am Vet Assoc*; 1990, 197, 93-94.
38. Müller J, Feige K, Kästner S, Naegeli H. The use of sarmazenil in the treatment of a moxidectin intoxication in a foal. *J Vet Intern Med*; 2005, 19: 348-9.
39. Pulliam, J D, Seward RL, Henry RT, Steinberg SA. Investigating ivermectin toxicity in collies. *Vet Med*; 1985, 80, 33-40.
40. Clarke D, Lee J, Murphy L, Reineke E. Use of intravenous lipid emulsion to treat ivermectin toxicosis in a Border Collie. *J Am Vet Med Assoc*; 2011, 239:1328- 1333.
41. Wright H, Chen A, Talcott P, Poppenga R,

Mealey K. Intravenous fat emulsion as treatment for ivermectin toxicosis in three dogs homozygous for the ABCB1-1 $\Delta$  gene mutation. *J Vet Emerg Crit Care*; 2011, 21:666-72.

42. Sivine F, Plume C, Ansay M. Picrotoxin, the antidote to ivermectin in dogs? *Vet Rec*; 1985, 116: 195-6.