

CLORPIRIFÓS: ASPECTOS CINÉTICOS A CONSIDERAR EN SU USO CLÍNICO COMO ANTIPARASITARIO EN VETERINARIA

Eduardo Picco, Casilda Rodríguez y Juan Carlos Boggio

El clorpirifós es un compuesto organofosforado que, a pesar de haber sido introducido en el mercado de los plaguicidas en el año 1965, continúa ocupando un importante volumen de venta, tal como lo muestran diferentes informes a nivel mundial, siendo uno de los tres más comercializados junto a cipermetrina y endosulfan.

Se estima que en la actualidad aproximadamente el 85% de los plaguicidas empleados en el mundo se destinan al sector agropecuario. La existencia de numerosas especies de ectoparásitos, de gran impacto sanitario y económico, ha determinado el uso del clorpirifós en el sector pecuario para el control de garrapatas, ácaros, piojos, pulgas, moscas y tábanos. Se presenta bajo diferentes formas farmacéuticas, pudiendo aplicarse por baños de inmersión o aspersión, en forma *spot-on* o *pour-on*, así como también en crotales y collares que liberan gradualmente el principio activo y que constituyen una excelente herramienta terapéutica para el control de ectoparasitosis en especies de producción y de compañía

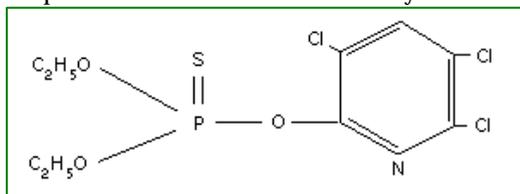
En el área agrícola, se utiliza frente a Órdenes de insectos representativos, tales como ortópteros, dípteros, homópteros, lepidópteros, coleópteros, himenópteros y hemípteros que afectan a los cultivos de cereales y oleaginosas, plantaciones frutales, explotaciones forestales, producciones de verduras y hortalizas, así como en los pastos destinados a la alimentación del ganado. Las formulaciones más habitualmente utilizadas con este propósito son los concentrados emulsificables, los gránulos, el polvo humectable y los gránulos dispersables en agua. Cada formulación se diseña como vehículo de aplicación para un escenario de control de plagas específico con el objetivo de maximizar la estabilidad y disponibilidad del producto ante una plaga concreta, minimizando la exposición de las personas (United States Environmental Protection Agency, 2002).

El clorpirifós también se emplea en los programas sanitarios de control de artrópodos, ya que muchos de éstos se comportan como vectores u hospedadores intermediarios de agentes patógenos responsables de diversas patologías, de especial importancia en zonas de clima cálido (malaria, chagas, dengue, oncocercosis, filariasis, esquistosomiasis, leishmaniasis, fiebre amarilla, ...). A esto se debe sumar el uso domiciliario, ya que es empleado para el control de diversos insectos presentes en los hogares, tal el caso de cucarachas, hormigas y moscas, además del control de ectoparásitos que afectan a animales de compañía y que, por tanto, están en íntimo contacto con el ser humano (United States Environmental Protection Agency, 2002).

ESTRUCTURA QUÍMICA y PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS

Con formato: Numeración y viñetas

El clorpirifós, cuyo nombre químico es *O,O*-dietil *O*-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotionato, se presenta como cristales sólidos cuyo color oscila entre incoloro y blanco amarillento. En



la Figura 1 y en la Tabla 1 se pueden observar su estructura química y sus principales características fisico-químicas, respectivamente.

Figura 1: Estructura química del clorpirifós

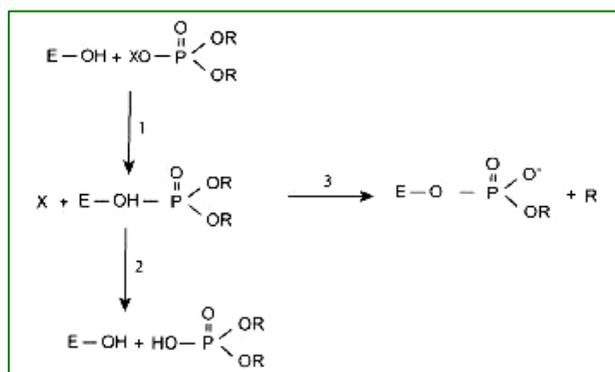
Tabla 1. Principales características físico-químicas del clorpirifós.

Características físico-químicas	
Nombre genérico:	Clorpirifós
Nombre químico:	O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotionato
Fórmula empírica	C ₉ H ₁₁ O ₃ NSPCL ₃
Peso molecular:	350,5
Punto de fusión	41,5 - 43,0 °C
Forma física	Cristales sólidos
Color	Cristales incoloros a blancos amarillento
Coefficiente partición octanol:agua	4,82
Solubilidad en agua a 20 °C	0,7 mg/L
Solubilidad en agua a 25 °C	2,0 mg/L
Solubilidad en isoocetano	79% p/p
Solubilidad en metanol	43% p/p

MECANISMO DE ACCIÓN

La enzima acetilcolinesterasa, responsable de hidrolizar a la acetilcolina, es el sitio principal de actuación del clorpirifós. El grupo fosfato (P=O) del clorpirifós fosforila al hidroxilo de la serina de la AChE, impidiendo que la misma actúe sobre su sustrato fisiológico. La unión entre el fósforo y la enzima es mucho más fuerte y estable que lo que se establece entre el carbono del acetato de la acetilcolina y la enzima, lo cual determina que la desfosforilación, o sea la recuperación de la enzima, se realice a una velocidad sumamente lenta, lo que prácticamente equivale a una inhibición de carácter irreversible (Costa, 2006). Una vez que la enzima ha envejecido, es decir, que ha perdido uno de los grupos alquilo (Figura 3) la inhibición es de carácter irreversible, por lo que la actividad se recupera únicamente por síntesis de nueva enzima.

Con formato: Numeración y viñetas



La inhibición es de carácter irreversible, por lo que la actividad se recupera únicamente por síntesis de nueva enzima.

Figura 3. Interacciones bioquímicas entre los organofosforados y la enzima acetilcolinesterasa.

- 1: Fosforilación de la enzima.
- 2: Reactivación espontánea de la acetilcolinesterasa.
- 3: Enzima fosforilada envejecida y estable.
(E-OH, sitio activo de la enzima).

La inhibición enzimática origina el acúmulo de la acetilcolina en los sitios en los que ésta se libera fisiológicamente, tanto en el SNC como en las terminaciones nerviosas periféricas. Pudiendo producir, por lo tanto, la estimulación de los receptores muscarínicos en los órganos efectores vegetativos; la estimulación, seguida de depresión o parálisis, de todos los ganglios vegetativos y de la musculatura esquelética por activación nicotínica, y la estimulación con ocasional depresión posterior de receptores colinérgicos centrales. La inhibición de esta enzima es también la responsable del efecto farmacológico del clorpirifós en el control de artrópodos, sumado al hecho que éstos presentan una capacidad muy baja para eliminar a los OF (Fukuto, 1990).

El clorpirifós también inhibe la butirilcolinesterasa (BChE), lo cuál a pesar de que no genera signos clínicos de relevancia, es sumamente importante ya que los valores de actividad de esta enzima son de utilidad para valorar la exposición a compuestos organofosforados y carbamatos (Costa, 2006).

Una tercer esterasa, que también puede resultar inhibida por algunos organofosforados, es la esterasa neurotóxica (NTE). Muchos compuestos, incluyendo a los carbamatos, pueden

inhibir esta enzima, pero sólo son los OF quienes ocasionan el envejecimiento de la misma y originan un cuadro de neuropatía periférica retardada (OPIDP) que se presenta entre 2 a 3 semanas posteriores a la exposición a un OF. Tanto la fosforilación como el proceso de envejecimiento que originan los OF sobre la NTE son semejantes a los que sufre la AChE (Costa, 2006). La inhibición de esta enzima constituye el segundo mecanismo en importancia para explicar la toxicidad de los organofosforados.

FARMACOCINÉTICA

En esta revisión, vamos a presentar el comportamiento cinético descriptivo del clorpirifós en las diferentes especies que, bajo nuestro conocimiento, han sido evaluadas y la influencia de diversos factores fisiológicos, cómo la edad y el género, haciendo especial énfasis en aquellos aspectos relacionados con las especies rumiantes. Todo ello, integrado dentro de la posible repercusión terapéutica. Debemos dejar patente que los trabajos que describen el comportamiento farmacocinético del clorpirifós son relativamente escasos, habiéndose desarrollado la mayoría de ellos en humanos y roedores.

Con formato: Numeración y viñetas

ABSORCIÓN

Características de la absorción del clorpirifós tras su administración oral y tópica

El clorpirifós se absorbe prácticamente por cualquier vía, aunque es preciso señalar que la forma farmacéutica y los excipientes empleados influyen considerablemente en la velocidad de absorción (Costa, 2006); más aún, si se tiene en cuenta la diversidad de preparados comerciales que existen en el mercado. En humanos, se ha estimado que la **absorción dérmica** de clorpirifós aplicado a la dosis de 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ es de 9,6%; sin embargo, otros autores encontraron unos porcentajes de absorción menores, alrededor de 1% (Nolan y col., 1984; Griffin y col., 2000), con bajos niveles plasmáticos (30 $\mu\text{g}/\text{L}$ tras una dosis de 5 mg/kg). Trabajos posteriores realizados recientemente por nuestro grupo de investigación corroboran estos resultados, ya que se ha observado que tras la aplicación de tópica de clorpirifós (10 mg/kg) en bovinos, las concentraciones plasmáticas del mismo eran inferiores a 18 $\mu\text{g}/\text{L}$. La velocidad de absorción del clorpirifós es lenta y variable en rumiantes. En bovinos, tras la administración tópica, este fármaco presentó un tiempo de latencia entre la aplicación del preparado y la detección del fármaco en sangre muy variable (entre 0,25 y 10 h). Ese comportamiento también se ha extrapolado al tiempo en el que se alcanza la concentración máxima, ya que presenta una gran variación individual ($t_{\text{max}} = 12,44$ h, rango: 1-36 horas; Picco y col., 2008a, Picco, 2009).

La **absorción oral** del clorpirifós es escasa y, en muchos casos, errática. En ratones, la absorción oral es pobre, tras la administración de 3, 9 o 30 mg/kg de fármaco, sólo con la dosis más alta se logran concentraciones plasmáticas cuantificables, obteniéndose la máxima concentración (359 ng/mL) a los 40 min post-administración, siendo la biodisponibilidad del 13% (Yuan, 1994). También, su absorción es escasa en ratas tratadas con dosis de 5 y 10 mg/kg de clorpirifós por vía oral ($AUC = 153$ y 375 ng·h/mL, respectivamente); pero más rápida que en otras especies, ya que la máxima concentración plasmática se alcanza a las 3 h post-administración (Mattsson y col., 2000). Las peculiaridades digestivas que presentan los rumiantes hacen que la absorción sea aún menor; así en ganado caprino, la administración oral de una dosis de 150 mg/kg de clorpirifós sólo alcanzó una C_{max} de 3,70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima fue de 12 h, aunque desde las 3 horas post administración se detectó la presencia del fármaco en sangre (Koley y col., 1997). El retraso y la variabilidad obtenida en el ganado caprino podría estar condicionada por el gran número de factores que pueden retrasar la absorción tras la administración oral en un rumiante, como son adsorción a la celulosa, quelación, retención en la fase sólida del rumen, atrapamiento iónico, alteración por la microflora ruminal, ...

En ganado bovino (Picco y col., 2008a, Picco, 2009), el *AUC*, parámetro que permite evaluar la biodisponibilidad del fármaco, presentó también una gran variación individual, con un rango de 4,1 a 694 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$, siendo en todos los animales mucho más bajo que el descrito por Koley y colaboradores (1997) en cabras ($AUC = 316 \text{ mg}\cdot\text{h}/\text{L}$). Estas diferencias podrían estar relacionadas con la vía de administración y con la dosis empleada. Evidentemente, al ser este parámetro directamente dependiente de la dosis utilizada y del aclaramiento ($AUC = \text{Dosis}/\text{Cl}$), es lógico que al administrar una dosis quince veces más elevada los valores de *AUC* pudieran multiplicarse por valores semejantes; sin embargo, el área obtenida en vacuno es aproximadamente unas mil veces menor. Este hecho podría estar claramente relacionado con una menor biodisponibilidad tras la administración en piel frente a la administración oral, a pesar de los numerosos factores que pueden reducir la absorción por esta última vía.

Factores que pueden afectar a la absorción cutánea.

Aunque son muchos los factores que pueden afectar la absorción, nuestra revisión se ha centrado en las particularidades de la absorción cutánea, debido a que ésta constituye la vía de uso terapéutico más frecuente, en especies tradicionales, por la que se administra el clorpirifos. Además, hemos considerado adecuado abordar las particularidades de la piel de los bovinos y su influencia en la absorción.

La piel, como describe Baggot, es una de las barreras biológicas más impermeables al agua que se encuentran en la naturaleza, siendo un órgano complejo y de gran tamaño, que llega a representar el 10% del peso vivo en bovinos. La epidermis está compuesta por células epiteliales queratinizadas dispuestas en capas, agrupadas de acuerdo al estadio de diferenciación. Estas células se originan en el estrato basal y se tornan más queratinizadas en la medida que se acercan a la superficie cutánea, por lo que precisamente el estrato córneo se constituye en el punto crucial de la absorción de medicamentos. La liberación del principio activo, desde la formulación aplicada en la superficie de la piel, y su transporte hacia la circulación sistémica es un proceso que incluye diversos pasos: disolución del principio activo y liberación desde la formulación, partición desde la formulación hacia la capa más externa de la piel, difusión dentro del estrato córneo, partición desde el estrato córneo hacia la dermis y difusión hacia los capilares sanguíneos.

Los fármacos aplicados de forma tópica pueden atravesar la piel por diferentes rutas, desde la superficie de la piel hasta la red vascular: difusión a través de lípidos intercelulares (vía intercelular); difusión transcelular o intracelular a través de los queratinocitos y lípidos (vía intracelular o transcelular) y, difusión a través de los anexos cutáneos, folículos pilosos y glándulas sudoríparas (vía transapendicular) (Rodríguez y Trujillo, 2008). En la vía transcelular, dependiendo de la naturaleza de la molécula (polaridad) la difusión puede ocurrir, bien sea, por disolución en los lípidos de la matriz lipídica, en el caso de los fármacos lipofílicos, o por disolución en el agua que se acumula en el estrato córneo. En seres humanos, se considera que la vía transapendicular posee una escasa contribución en la penetración transdérmica, ya que estos anexos cutáneos sólo representan el 1% del área total de la piel; de aquí que, aún cuando el ingreso por esta ruta sea más rápido, su contribución en la absorción de fármacos sea poco considerable en esta especie. Sin embargo, la mayor permeabilidad de la unidad pilo-sebácea (foliculo piloso, pelo y glándula sebácea) frente a los corneocitos sí podría tener una mayor entidad cinética en otras especies como veremos en el apartado siguiente, ya que constituye una posible vía alternativa que permite que los fármacos alcancen la dermis evadiendo la impermeabilidad del estrato córneo intacto (Barry, 2001).

El lento paso de los fármacos a través de los dominios lipídicos del estrato córneo es seguido de una rápida difusión a través de la **dermis** papilar. Ambos procesos se llevan a cabo por difusión pasiva. La velocidad y la magnitud de este transporte están gobernadas

por la ley de Fick, según la cual la velocidad de difusión es directamente proporcional al coeficiente de difusión y al de partición del principio activo y a la solubilidad del mismo en el medio acuoso que rodea la membrana, siendo inversamente proporcional al grosor de la membrana a ser atravesada (Villarino y Landoni, 2006).

A esto se debe sumar otro factor que influye notoriamente en la absorción de fármacos aplicados por vía cutánea, como es el **excipiente** empleado en la formulación; algunos antiparasitarios se absorben mucho más rápido desde la piel de los porcinos cuando se aplican con dimetilsulfóxido que cuando se administran junto a una mezcla de gliceroformaldehído, isopropranol, octanol y macrogol (Baggot, 2001). Además, siempre se debe tener en consideración la posibilidad de un **efecto de primer paso** a este nivel, ya que pueden tener lugar reacciones de oxidación mediadas por el citocromo P450, de hidrólisis y de conjugación con glucurónico, sulfato y glutatión (Baggot, 2001).

El clorpirifós se caracteriza por poseer una elevada liposolubilidad lo que facilita su distribución por la superficie cutánea, actuando esta última como una **zona de depósito** desde el cual el fármaco se libera lentamente a la circulación sistémica (Griffin y col., 2000), ya que se ha demostrado que en seres humanos entre el 56 y el 66% del clorpirifós aplicado por vía tópica se mantiene sobre la superficie cutánea durante 24 h y que a pesar de efectuar el lavado de la superficie cutánea 4 horas después de haber realizado un tratamiento continúan encontrando la presencia del metabolito 3,5,6-TCP en orina a las 120 h post tratamiento, siendo la semivida de eliminación de los metabolitos dialquilsulfato de 30 h tras la administración tópica, comparada con las 15,5 h que presenta tras la aplicación oral, lo cual demuestra que la piel actuaría como reservorio de fármaco, desde el que se liberaría gradualmente, en función de la tasa de transporte transcutáneo y del recambio epidérmico.

Aspectos que pueden influir en la absorción cutánea en rumiantes: peculiaridades anatomofisiológicas, edad, sexo y condiciones ambientales

De forma más específica, debemos señalar que existen una serie de diferencias anatomofisiológicas entre los rumiantes y otros mamíferos que pueden condicionar una diferente respuesta farmacocinética tras su aplicación en piel. En bovinos y ovinos, el **foliculo piloso** constituye una de las vías más importante para la absorción de medicamentos a nivel cutáneo. Se estima que existen más de 10.000 folículos pilosos por cm^2 en algunas regiones de la piel de ovejas merino frente a los 40-70 folículos/ cm^2 en humanos. Además, estas especies para proteger su piel exudan grandes cantidades de material lipoideo. Estas secreciones exocrinas poseen propiedades emulsionantes que pueden aumentar la disolución y, así, facilitar la absorción (Baggot, 2001).

Precisamente, la alta densidad de estas estructuras y la presencia de estas sustancias emulsificantes provenientes de la secreción sebácea, facilitan la absorción cutánea de fármacos y hacen que probablemente esta estructura contribuya más en la absorción percutánea de compuestos hidrofílicos en estos rumiantes que en otras especies. Respecto a la influencia de la secreción sudorípara hay que tener en cuenta que sólo los equinos y los seres humanos son capaces de sudar profusamente (Baggot, 2001). Otro factor a considerar es el **grosor del estrato córneo**, ya que en los perros, cerdos y seres humanos es en promedio de 19,9 μm , en tanto que en los bovinos y ovinos puede alcanzar los 30 μm . También se debe considerar que el peso que supone la piel con respecto al peso vivo del animal es, aproximadamente, del 10% para vaca, cabra y perro, 7,5% para caballo y 3,7% para humanos. Estas diferencias que se presentan entre las diversas especies animales, hacen que sea difícil extrapolar los datos de absorción dérmica de una especie a otra (Monteiro-Riviere, 1990). La mayor permanencia del clorpirifós en la sangre de los rumiantes (bovinos: 48 h) (Koley y col.1997; Picco, 2009), posiblemente puede estar condicionada además por la elevada liposolubilidad del clorpirifós y por las características

especiales de su piel, que acentúan el efecto reservorio mencionado anteriormente en humanos.

Las propiedades de defensa cutánea que impiden el ingreso de sustancias extrañas al organismo no están lo suficientemente maduras inmediatamente después del nacimiento. Esto podría estar determinado por los cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren en el proceso de **maduración de la piel**. Dentro de los cambios morfológicos tenemos el espesor de la piel y, fundamentalmente del estrato córneo, ya que este último es mucho más grueso en los animales adultos, en tanto que uno de los principales cambios funcionales es el flujo sanguíneo en la dermis. Todo esto determina que la absorción cutánea sea mayor en neonatos que en adultos (Kielhorn y col., 2006). Estas diferencias que acontecen en la piel con la edad podrían justificar, al menos en parte, la mayor sensibilidad a padecer episodios de intoxicaciones por clorpirifós en los individuos jóvenes respecto a los adultos. Esta situación fue observada en bovinos, porcinos y ratas (Moser y col., 1998). Relacionado con lo expuesto anteriormente, Picco y colaboradores (2009) observaron que la absorción fue más rápida en los terneros, teniendo un menor tiempo de latencia, que en los animales adultos, apareciendo de forma más uniforme en todos los animales, lo cual refleja diferencias en la tasa de absorción en función de la edad y podría deberse, en parte, a la mayor permeabilidad que presenta la piel de los individuos jóvenes (Kielhorn y col., 2006).

La **temperatura cutánea** también tiene un importante impacto en la velocidad de absorción de los fármacos aplicados sobre la piel. Por un lado, el incremento en la temperatura aumenta la absorción por un mecanismo directo, ya que afecta la difusión dentro de la piel, al modificar la conformación del estrato córneo, particularmente la estructura cristalina de la bicapa lipídica. Por otra parte, la temperatura también afecta el flujo sanguíneo a la piel, así el aumento de la temperatura cutánea reduce la resistencia vascular periférica con lo cual se incrementa el flujo de sangre a la piel y por lo tanto facilita la absorción de los fármacos. En general, este mecanismo, es importante para incrementar la absorción de moléculas pequeñas y moderadamente liposolubles que ingresan rápidamente a la piel, pero que se absorben lentamente a la circulación general (Kielhorn y col., 2006). Por lo tanto, es evidente que la época del año puede modificar la tasa de absorción de fármacos aplicados por vía tópica, fundamentalmente de aquellos de liposolubilidad moderada, tal como se apreció en seres humanos para algunos antiparasitarios y agonistas adrenérgicos. En los bovinos, Taylor y colaboradores (1983), demostraron que la biodisponibilidad de un antiparasitario era entre un 60 y 70% superior en verano respecto a la obtenida cuando el medicamento era aplicado en invierno. De todos modos, es importante consignar que las **condiciones climáticas** no sólo afectan la absorción por modificar las características de las secreciones cutáneas, sino que hay otros factores que deben ser tenidos en cuenta, como son la exposición a la lluvia o a baños (que incrementan la tasa de lavado del fármaco) y la intensidad de la radiación solar a la que se ven sometidos los animales (que, sin lugar a duda, constituye un factor que disminuye la disponibilidad de compuestos fotosensibles aplicados de forma tópica). Estos hechos podrían justificar la distinta respuesta estacional dinámica observada por Picco (2009) para el clorpirifós en ganado vacuno.

La variación interindividual que presentaron los distintos parámetros farmacocinéticos para el clorpirifós en ganado bovino (Picco y col., 2008a; Picco y col., 2008b; Picco, 2009) es característica de los procesos de absorción cutánea, debido a los factores inherentes a la conformación y funcionalidad de la piel; pero además existe otro factor que puede causar estas variaciones, el **lamido**. Por los hábitos higiénicos de estos animales, al aplicarse el fármaco a lo largo de la columna vertebral desde la unión de las escápulas hasta la base de la cola, es factible que el lamido de su propio pelaje o el de los animales próximos pueda modificar la cantidad de fármaco que ingresa al organismo, como ocurre con otros antiparasitarios.

La absorción también puede estar condicionada por el **sexo** del individuo. Siendo especialmente marcada su influencia sobre la absorción a nivel gastrointestinal, ya que precisamente algunos de los factores que la condicionan, tales como la secreción estomacal ácida, la tasa de vaciado gastrointestinal, el flujo sanguíneo, el área de superficie expuesta, el efecto de primer paso gastrointestinal y hepático, son dependientes del sexo del individuo (Gandhi y col., 2004). Son muy escasos los estudios que evalúan la influencia del sexo en la absorción de fármacos a través de la piel siendo las ratas una de las especies en la cual se ha comprobado que existen diferencias en la permeabilidad cutánea en función del sexo, puesto que la piel de las ratas hembras es más permeable a los compuestos polares que la de los machos (Bronaugh y Maibach, 1999). La Comisión Internacional de Protección Radiológica estableció que en seres humanos el grosor de la piel es aproximadamente el mismo tanto para hombres como para mujeres, 70 μ m (Valentin, 2001). Por su parte en bovinos de raza Holstein el grosor de la piel de los toros (5,98 \pm 0,53 mm) es mayor que el de las vacas (4,62 \pm 0,06 mm) de una edad equiparable (Muralidharan, 2006). Aparentemente, los estudios cinéticos preliminares realizados en bovinos con clorpirifós indican que no existe una dependencia de género en la absorción tras aplicación *pour-on* (Picco y col., 2008a).

No obstante, es preciso señalar que resulta sumamente complicado evaluar la absorción cutánea, puesto que la actividad metabólica que presenta la piel intacta puede ocasionar que el fármaco sea metabolizado antes de alcanzar la circulación general, y por lo tanto se confunda el efecto de primer paso con baja absorción cutánea.

DISTRIBUCIÓN

Características de la distribución del clorpirifós

El análisis farmacocinético del clorpirifós efectuado en diferentes especies se ajusta a un modelo bicompartimental (Yuan, 1994; Koley y col., 1997). Al ser un compuesto muy liposoluble, es ampliamente distribuido por todo el organismo (Smith y col., 1967). Así, este compuesto presentó en roedores tras su administración intravenosa, un amplio volumen de distribución en estado estacionario ($V_{d_{ss}}$: 1,8 L/kg) y una rápida distribución ($t_{1/2}$: 6 min) (Yuan, 1994). Este mismo comportamiento también se ha observado en cabras ($V_{d_{area}}$: 3,10 L/kg) (Koley y col., 1997).

Influencia de la edad en la distribución de fármacos

Composición corporal

Existen varios factores que afectan la distribución de fármacos que tienen la particularidad de diferir entre neonatos y adultos y que, por lo tanto, originan modificaciones en la disposición cinética en estos animales. El agua corporal, que constituye del 60 al 75% del organismo, puede considerarse distribuida en varios compartimentos. Algo más de la mitad está contenida en el interior de las células, por lo que el agua intracelular constituye del 30 al 40% del peso corporal. El líquido extracelular incluye el plasma sanguíneo (4-5%), el líquido intersticial (16- 18%) y el transcelular (1-3%) (Baggot, 2001).

El contenido acuoso es más bajo en los adultos que en los recién nacidos. Así, el agua corporal puede comprender el 75% del peso total en un animal neonato, mientras que en un adulto es del 60%. En el caso de cabras, el volumen extracelular representa el 43% del peso corporal a la primera semana de vida, mientras que a la tercera desciende al 34%. Ese descenso en el volumen acuoso es más notorio en los primeros meses, pero continúa lentamente hasta la edad adulta. Es importante destacar que después del nacimiento se producen modificaciones en las proporciones de cada uno de los compartimentos. Así, mientras el volumen de líquido extracelular se reduce, el del líquido intracelular aumenta. El desarrollo de este tipo de cambios podría tener un efecto significativo en la distribución de fármacos polares, compuestos hidrosolubles como el caso de penicilinas, aminoglucósidos

y antiinflamatorios no esteroideos (Baggot, 2001). Sin embargo, derivado de las características físico-químicas del clorpirifós, consideramos que la influencia de la modificación del contenido hídrico orgánico, tendría una mínima influencia sobre este antiparasitario.

En general, el tejido adiposo y la masa muscular son sustancialmente más escasos en animales jóvenes que en animales maduros. A causa de que muchos fármacos tienen gran afinidad por estos tejidos, sobre todo los fármacos liposolubles en el tejido adiposo, se podría predecir que la carencia de estos depósitos en los neonatos puede limitar la captación de fármacos liposolubles, incluyendo dentro de éstos a los barbitúricos y a los organofosforados, lo que puede generar una prolongación del efecto, ya que estos fármacos presentarían una menor redistribución en el tejido adiposo.

Compartimentos digestivos en rumiantes

Aunque los fluidos del contenido gastrointestinal pueden considerarse extracorpóreos, conviene tener presente que en los rumiantes el contenido del tubo digestivo, que representa del 12 al 15% del peso corporal, puede constituir un compartimento especial de “distribución” de ciertos compuestos, como sucede con el sistema rumen-retículo, pudiendo realizarse un intercambio bidireccional de fármacos y justificando así los elevados volúmenes de distribución descritos para algunos fármacos en estas especies. En los rumiantes, el desarrollo del estómago es incompleto al momento del nacimiento, pudiéndose dividir en general en tres etapas: del nacimiento a las tres semanas de edad, donde el rumen y el retículo no son funcionales; de tres a ocho semanas, aquí los preestómagos inician su desarrollo y de las ocho semanas en adelante, cuando estos órganos son por completo funcionales. En los terneros recién nacidos pueden distinguirse ya claramente las cuatro cavidades del estómago. En ese momento corresponde al abomaso entre el 56 al 62% del volumen total del complejo gástrico. Como resultado de la ingestión de alimentos vegetales, se produce después un notable desarrollo de los preestómagos, de manera que a la edad de 4 semanas constituyen, el rumen y el retículo, el 64% del volumen gástrico total, cifra que se eleva al 75% a las 12 semanas. En los animales adultos esta proporción acaba por ser del 87% del volumen total. El valor del volumen de distribución del clorpirifós en cabras (Koley y col., 1997) es más elevado que el descrito en roedores (Yuan, 1994), ello podría estar influenciado por el paso de este compuesto a este complejo rumen-retículo.

Barrera hematoencefálica

Una diferencia adicional, particularmente en el período neonatal temprano, es la carencia en el desarrollo de ciertas barreras al acceso de los fármacos, tales como la barrera hematoencefálica, lo cual puede permitir la difusión de los fármacos hacia estas zonas en el neonato, esto hace que se alcancen concentraciones terapéuticas de muchos fármacos en sitios que se consideran inaccesibles para los adultos, tal es el caso de la penicilina, que solamente atraviesa la barrera hematoencefálica en neonatos o cuando se ha alterado la integridad de la misma por algún proceso patológico.

Moser y col., 1998, argumentaron que la edad podía influir en la distribución del clorpirifós en el SNC, lo que justificaría la diferente toxicidad observada entre los distintos grupos etarios. Los autores indicaron que los animales jóvenes podrían tener una mayor permeabilidad de la barrera hematoencefálica, lo cual permitiría al clorpirifós alcanzar el SNC rápidamente, antes de ser detoxificado por las enzimas sanguíneas y por tanto inhibir a las colinesterasas. Ellos observaron que en ratas adultas la inhibición de la colinesterasa sanguínea era casi completa mientras que la inhibición de esta enzima en SNC era prácticamente insignificante; sin embargo, en ratas jóvenes se encontró que los valores de actividad que presentaban eran prácticamente similares.

La permeabilidad de la barrera hematoencefálica disminuye en la mayoría de los mamíferos a partir del primer día de vida, por lo tanto se podría inferir que el clorpirifós o su metabolito oxón, alcanzan una mayor concentración en el sistema nervioso central de los neonatos que en el de los adultos, y por lo tanto producen una mayor inhibición enzimática. De todos modos, es importante señalar que al ser el clorpirifós un compuesto sumamente liposoluble esas diferencias de permeabilidad se reducen, aunque continuarían presentándose, tal como se ha descrito para otros fármacos muy liposolubles como la morfina y el pentobarbital (Nouws, 1992).

Glucoproteína-G

Otro factor que también podría estar participando es la expresión diferencial entre adultos y jóvenes de bombas de expulsión, como la glicoproteína P. En ratas, la expresión de esta glicoproteína es dependiente de la edad, así se ha podido observar que se incrementan sus niveles de actividad hacia el día 6 en riñones, al día 20 en pulmón e hígado y al día 30 post nacimiento en corazón y cerebro. De este modo, la mayor expresión de la glucoproteína P en el cerebro de los animales adultos podría facilitar la eliminación de diferentes xenobióticos del sistema nervioso, e impediría que se concentre en el SNC. Este mecanismo se ha descrito para la ivermectina, la cipermetrina y el endosulfán, sin embargo parece que no afecta al clorpirifós, dado que el verapamil, fármaco inhibidor de esta proteína de eflujo, es capaz de incrementar la toxicidad de los tres primeros pero no afecta a nuestro compuesto (Buss y col., 2002). Sin embargo, Lanning y colaboradores (1996) también observaron que el clorpirifós no está implicado en este proceso pero sí su metabolito; ellos describen que el clorpirifós-oxón puede interactuar con la glicoproteína P, de forma que apoya la hipótesis de que esta proteína juega un papel importante en la desintoxicación de estos insecticidas en los tejidos de los mamíferos.

Influencia del género en la distribución de fármacos

En cuanto a la influencia del sexo en la distribución, tenemos que en general, las hembras presentan un mayor porcentaje de grasa corporal, un menor promedio de peso, un menor volumen plasmático y un menor flujo sanguíneo a los tejidos, todo lo cual puede influenciar la distribución de los fármacos (Gandhi y col., 2004). Estas diferencias en bovinos a su vez, pueden depender del tipo de animal a evaluar, ya que es muy distinto el porcentaje de grasa corporal que presentan las razas índicas, británicas o continentales. El diferente porcentaje de grasa corporal podría influir en el comportamiento del clorpirifós, dado en este tejido es donde se aprecia que es el residuo principal ya que es donde alcanza una mayor concentración y posee una mayor permanencia (IPCS INCHEM, 1999).

Las principales proteínas responsables de vehicular a los fármacos en plasma son la albúmina, la α_1 -glicoproteína ácida (AAG) y las α -globulinas. La concentración de albúmina no se modifica en función del sexo, pero la AAG sí está influenciada por los estrógenos, tanto endógenos como exógenos, ya que estos disminuyen el nivel de esta glicoproteína en plasma y aumentan su glicosilación. No obstante, en un estudio desarrollado en ovejas se evidenció que, tras la aplicación de albendazol, la unión de los metabolitos de este fármaco a las proteínas plasmáticas, tanto albúminas como globulina, era menor en machos que en hembras (Cristofol y col., 1998). Esto podría ser debido a que los ácidos grasos no esterificados y la testosterona se unen a las albúminas plasmáticas por lo tanto compiten con el fármaco por el sitio de unión, pudiéndolo desplazar y hacer que aumente la fracción libre en los machos.

La preñez ejerce un efecto sumamente complejo interfiriendo en la tasa de unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas, ya que en la medida que la preñez avanza, la concentración de albúminas y otras proteínas plasmáticas disminuye, lo cual determina que exista más fármaco libre y, por ende, una mayor cantidad de fármaco disponible. Los

resultados obtenidos cuando se ha valorado la influencia del sexo sobre la concentración de la AAG son contradictorios; en algunos trabajos se observa que los niveles de dicha glicoproteína disminuyen, mientras que otros indican que no hay diferencias. A medida que avanza la gestación, se produce un incremento sostenido en la producción de ligandos endógenos, tal el caso de los ácidos grasos libres, que compiten con los fármacos por sitios de unión a la albúmina. Además, la capacidad de unión a las proteínas podría estar reducida de forma secundaria, debido a las modificaciones que acontecen durante la preñez en la estructura proteica.

ELIMINACIÓN

Principales vías metabólicas del clorpirifós

El clorpirifós es biotransformado mediante distintas reacciones metabólicas (Figura 2). En una de ellas, el compuesto es bioactivado por medio del sistema microsomal citocromo P450 (CYP) mediante una reacción de desulfuración oxidativa, siendo estas enzimas quienes lo transforman en el metabolito activo, el clorpirifós-oxón, el cual es aproximadamente mil veces más potente en su capacidad para inhibir la enzima acetilcolinesterasa que el fármaco original. Esta bioactivación se desarrolla tanto en los vertebrados como en los invertebrados, siendo el oxón posteriormente desactivado por hidrólisis, mediante esterasas tipo A, originando dietilfosfato y 3,5,6-tricloropiridinol (TCP).

Las esterasas tipo A, también conocidas con la denominación de arilesterasas o paraoxonasas constituyen un grupo de enzimas ampliamente distribuidas en la sangre y los tejidos de prácticamente todos los seres vivos, siendo capaces de hidrolizar una gran variedad de ésteres, incluyendo a los organofosforados. De todos modos es importante consignar que los organofosforotriatos no sirven como sustrato de la enzima, por lo que sólo los organofosforatos que poseen un grupo P=O o los oxones pueden ser metabolizados por las esterasas tipo A (Tang y col., 2006). Esta enzima presenta mucha más afinidad por el clorpirifós-oxón y el diazinón-oxón que por otros organofosforados. Posiblemente este mecanismo explica la moderada toxicidad que presentan estos compuestos cuando se los compara con otros fosforotriatos. Esta hipótesis se ha corroborado en un estudio *in vivo*

realizado con roedores, en el que se demostró que la administración previa de paraoxonasa reducía 2,5 veces el grado de inhibición de la AChE originada por la administración de clorpirifós-oxon (Costa, 2006).

Mediante una segunda vía metabólica, también dependiente de las enzimas CYP, el clorpirifós se inactiva directamente por una reacción de desarilación, transformándose en dietilfosfato y 3,5,6-tricloropiridinol (Smith y col., 1967).

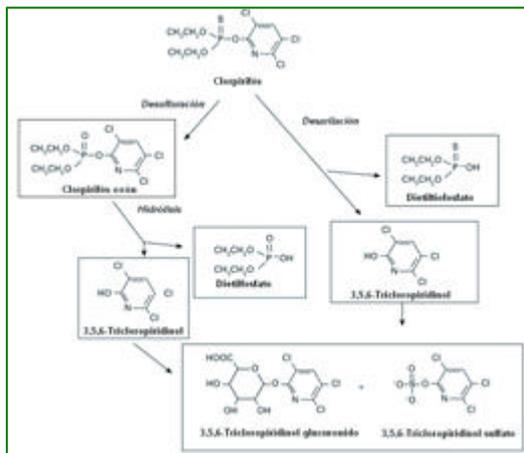


Figura 2. Vías metabólicas del clorpirifós. Tomado de Smith y colaboradores, 1967.

Dado que las reacciones de desulfuración oxidativa y de desarilación compiten por el sustrato, existe una relación CYP dependiente entre la bioactivación y desactivación a las cuales son expuestos los fosforotriatos. Esta relación varía para cada CYP en particular. Dentro de las enzimas CYP de los microsomas hepáticos humanos, las isoformas CYP1A2,

CYP2B6, CYP2C19 y CYP3A4 están implicadas en el metabolismo del clorpirifós. CYP2B6 es la isoforma que presenta mayor actividad de desulfuración oxidativa, en tanto que la desarilación se manifiesta mayoritariamente en CYP2C19. La CYP3A4 presenta tanto actividad de desulfuración como de desarilación. Es por eso que los individuos que poseen una alta expresión de CYP2C19, pero baja actividad de 3A4 y 2B6 son más activos en la desarilación que en la desulfuración. Del mismo modo, los individuos que tienen una alta actividad de CYP2B6 y 3A4, presentan un mayor potencial para la activación del clorpirifós (Tang y col., 2006).

Las carboxiesterasas constituyen otro de los contribuyentes a la detoxificación de los oxones, incluyendo a aquellos de baja afinidad por las esterasas tipo A. Representa un mecanismo defensivo contra los oxones generados a nivel hepático, ya que se combina estequiometricamente con los mismos antes que alcancen el sistema nervioso central, lo cual conduce a la fosforilación de la carboxiesterasa y a la anulación del organofosforado. Es importante consignar que éste es un proceso saturable, por lo que afecta sólo a bajas concentraciones del oxón, y por lo tanto, su eficacia en la detoxificación es sumamente baja en los casos de exposiciones a altas dosis de organofosforados (Tang y col., 2006).

Los metabolitos surgidos de las reacciones de fase I son luego conjugados con glucurónidos o con sulfatos, transformándose en sustancias hidrosolubles fácilmente excretables por orina (Tang y col., 2006).

Todos estos procesos de eliminación determinan que la permanencia del clorpirifós en el organismo sea relativamente corta, comparada con la de sus metabolitos, y teniendo en cuenta que algunos de ellos mantienen la actividad farmacológica, se les debe prestar una atención especial. En ratones la semivida de eliminación del clorpirifós es aproximadamente de una hora cuando se administra por vía intravenosa; esta permanencia se incrementa cuando es administrado por vías extravasales debido a que la absorción limita la eliminación (Yuan 1994). En cabras el tiempo medio de eliminación es de 4,16 h cuando es administrado por vía oral (Koley y col., 1997).

Resulta muy complejo caracterizar el perfil cinético del clorpirifós-oxon, ya que al ser rápidamente metabolizado, es muy difícil de cuantificar en plasma, tal como lo demuestra en ratas el estudio de Mattsson y colaboradores (2000), quienes no detectaron clorpirifós-oxon en plasma, pero si TCP (2,048 μ g/g) a las 4 horas post-tratamiento con clorpirifós en dosis de hasta 5 mg/kg, descendiendo la concentración del metabolito hasta 0,071 μ g/g a las 26 horas post-administración. En ratones, la permanencia del metabolito TCP fue más prolongada que la del clorpirifós, así cuando se administró por vía intravenosa la semivida de eliminación fue de 48 min para el clorpirifós y de 179 min para su metabolito. Tras la administración oral de 30 mg/kg, la máxima concentración plasmática del metabolito ocurrió entre 10 a 40 minutos post administración, en tanto que la semivida de eliminación del metabolito varió entre 110 a 229 minutos. Esto demuestra la rapidez con que el clorpirifós se metaboliza, ya que prácticamente se alcanzó al mismo tiempo la C_{max} para el metabolito que para la fármaco madre (Yuan, 1994).

Los resultados obtenidos a la hora de evaluar la depleción tisular del clorpirifós y sus metabolitos indican que su mayor permanencia se encuentra en la grasa. En roedores, la semivida terminal del clorpirifós en hígado y riñón fue superior a 20 h, aunque el valor más elevado fue el que se registró en el tejido adiposo, con una semivida de 62 h (Smith y col., 1967). En cabras, a las cuales se les administró durante 10 días clorpirifós radiomarcado incorporándolo al alimento a una concentración de entre 15 a 19 ppm, se encontró que aproximadamente el 80% del compuesto marcado se recuperaba en orina, mientras que sólo se hallaba el 2,6% en heces, el 0,9% en intestino, el 0,8% en tejidos y el 0,1% en leche (IPCS INCHEM, 1999). Sin embargo, cuando a estos rumiantes se les administró una dosis única de 150 mg/kg por vía oral, el clorpirifós fue excretado en una mayor cantidad y durante más tiempo por heces que por orina (heces: 168 h; orina: 96 h) (Koley y col., 1997).

estas diferencias en la sensibilidad al clorpirifós radica en las diferencias en la desactivación de los organofosforados.

Mattson y colaboradores (2000) demostraron que, tras la administración diaria de clorpirifós a ratas desde el sexto día de gestación en adelante, la sangre de los fetos de 20 días de gestación presentaba aproximadamente la mitad de la concentración de clorpirifós que tenía la sangre materna, pero llamativamente se detectaba la presencia de clorpirifós-oxón, metabolito que no era detectado en la sangre de las ratas adultas. Esta situación fue atribuida a la menor capacidad de detoxificación del oxón por parte de los fetos. De todos modos, a pesar de los altos niveles de oxón en los fetos, no encontraron diferencias en el porcentaje de inhibición de la AChE cerebral con el que presentaban las madres.

Un elemento que también contribuye a explicar las diferencias que existen entre jóvenes y adultos en la sensibilidad al clorpirifós es la tasa de detoxificación diferencial mediada por carboxilesterasa y esterasas tipo A. Así se ha demostrado que las ratas jóvenes presentan una menor actividad de esterasas tipo A (Padilla y col., 2000). Es interesante resaltar que en su estudio, Moser y colaboradores (1998), encontraron que las ratas de 27 días de vida eran aproximadamente dos veces más sensibles al clorpirifós que las adultas, siendo los niveles de esterasas tipo A prácticamente similares; mientras que la actividad de carboxilesterasa era entre un 50 a un 60% inferior en las jóvenes. Los autores sugirieron que, posiblemente el principal determinante en la toxicidad diferencial entre jóvenes y adultos podría obedecer a la diferente actividad de la CbE. Esta hipótesis fue también corroborada en base a los resultados obtenidos por Karanth y Pope (2000) en ratas, quienes no sólo encontraron una mayor actividad de CbE en hígado y sangre de adultos, sino también a nivel pulmonar, donde la enzima contribuye de manera significativa a la detoxificación frente a grandes exposiciones a organofosforados, tal como lo indican Gaustad y colaboradores, (1991). En esta misma línea, Moser (2000) argumenta que estos dos sistemas críticos de detoxificación, como son la hidrólisis mediada por esterasas tipo A y la unión a CbE, están menos desarrolladas en jóvenes; por lo que la maduración de estos procesos lleva consigo una disminución de la sensibilidad a la exposición aguda a clorpirifós y otros OF. Esta explicación toxicocinética apoya los resultados obtenidos por este autor, ya que justificaría el desplazamiento a la derecha de las curvas dosis-respuesta realizadas para evaluar los cambios en el comportamiento neurológico en ratas de diferentes edades; sin embargo, no obtuvo la misma respuesta en todos los aspectos evaluados, ya que existían comportamientos del animal expuesto a clorpirifós no dependientes de la edad. Por todo ello, Moser considera que no podría ser la única explicación de las diferencias observadas.

Este comportamiento no tiene porque ser extensivo a todos los organofosforados, ya que Padilla y colaboradores (2000) observaron que el metamidofós, a diferencia del clorpirifós, no produce un mayor efecto tóxico en los animales jóvenes; la hipótesis de los autores es que esta mayor sensibilidad observada en edades tempranas podría estar relacionada con el hecho de que este OF no se detoxique vía esterasas tipo A o carboxilesterasas.

Es importante resaltar que así como se describen diferencias entre jóvenes y adultos, también se presentan diferencias en la actividad de la CbE entre ratas adultas (3 meses) y gerontes (24 meses), ya que en este último grupo etario la actividad de la enzima es menor, no así en el caso de las esterasas tipo A donde la actividad es similar entre los individuos de 3 y 24 meses, por lo que cuando el organofosforado es aplicado a dosis bajas no se presenta una mayor toxicidad en las ratas de gerontes ya que las esterasas tipo A serían capaces de neutralizar al OF, hecho que no sucede cuando la dosis es más alta, puesto que se hace evidente la menor actividad enzimática de las carboxiesterasas (Karanth y Pope, 2000).

En trabajos preliminares desarrollados en seres humanos, Pope y colaboradores (2005) no encontraron diferencias en la expresión hepática de la CbE en función de la edad, comparando para ello la actividad de la enzima entre el grupo de individuos jóvenes (2 a 24 meses) y los adultos (20 a 36 años); de todos modos los autores señalan la necesidad de

realizar nuevos estudios, a fin de corroborar fehacientemente sus resultados, puesto que los microsomas empleados en el estudio provenían solamente de 5 individuos menores de 24 meses, y que a su vez estuvieron sometidos a tratamientos con corticoides. En los bovinos, la principal localización de la carboxilesterasa es a nivel hepático, teniendo niveles muy bajos en sangre. Si bien no encontramos datos que describan diferencias en la actividad de la enzima en función de la edad del bovino, en base a que la funcionalidad hepática se desarrolla en forma gradual, se requerirían entre 3 a 12 semanas para que se el metabolismo oxidativo sea completo (Nouws, 1992), por ello se podría inferir que la menor detoxificación sería uno de los causantes de la mayor sensibilidad que presentan los jóvenes. Todos los hechos anteriormente expuestos podrían ser la razón que justifique lo descrito por Picco (2009) en bovinos, donde se ha evaluado la influencia de la edad en el comportamiento del clorpirifós, observando diferencias en la permanencia del antiparasitario.

Influencia del sexo en el metabolismo

El metabolismo parece desempeñar un papel importante en las diferencias farmacocinéticas que se presentan entre machos y hembras. El aclaramiento hepático de los fármacos depende del flujo sanguíneo al órgano y de la actividad de las enzimas hepáticas. Aunque el gasto cardíaco y el flujo de sangre al hígado es menor en hembras que en machos, las diferencias farmacocinéticas que se presentan en función del sexo parecen deberse casi exclusivamente a diferencias en la actividad de las enzimas hepáticas, tanto en las de Fase I como de Fase II (Schwartz, 2003).

Las hormonas sexuales influyen sobre la actividad del citocromo P450. La actividad de la CYP2J5 del riñón de ratones, isoenzima que convierte el ácido araquidónico en ácido epoxieicosatrienoico, se estimula por la testosterona y se reprime por los estrógenos. Así, los machos presentan más actividad CYP2J5 que las hembras y la castración deprime su expresión. Además, la administración de testosterona a hembras o a machos castrados incrementa la expresión de esta proteína a valores cercanos a los normales para machos enteros; el tratamiento de hembras ovariectomizadas o de machos castrados con estradiol reduce el CYP2J5 y aquellos machos que poseen una reducida expresión de receptores androgénicos tienen bajos niveles de CYP2J5 y no responden a la aplicación de dihidrotestosterona (Ma y col., 2004).

Una de las isoformas más abundantes de CYP en el hígado humano es la CYP3A4, isoenzima que representa aproximadamente el 30% de la actividad CYP hepático total y que está implicada en el metabolismo del clorpirifós. A diferencia de lo descrito a nivel intestinal, existen numerosos estudios que han demostrado que la actividad de la forma CYP3A4 en hígado es superior en mujeres que en hombres, ya que el aclaramiento de algunos fármacos, como eritromicina, verapamilo, diazepam, metilprednisolona y ciclosporina se ve incrementado en un 20 a un 40%. Generalmente, estas diferencias entre sexos se han atribuido a una distinta actividad metabólica y, a veces, con modificaciones en el transporte a través de membranas (Meibohm y col., 2002). De hecho, la glicoproteína P, importante proteína de membrana, producto del gen MDR-1, que actúa como bomba de expulsión de diversos fármacos, se expresa entre un 30 a un 50% menos en las células hepáticas de mujeres que de hombres. Esto determinaría que en las hembras se encuentre una mayor disponibilidad intracelular del fármaco y por lo tanto una mayor tasa metabólica hepática para aquellos fármacos que son sustrato tanto de la CYP3A4 como de la glicoproteína P (Kaltenbach y Dukic, 2003).

En bovinos, también se han descrito diferencias en el comportamiento farmacocinético de diversos compuestos en función del sexo del individuo (Capece y col., 2000), lo cual puede ser atribuido a la diferente actividad metabólica del citocromo P450, ya que se ha demostrado que en bovinos de raza piamontesa la actividad de la enzima CYP3A era mayor

en machos que en hembras, aunque en el mismo estudio no encontraron diferencias entre machos y hembras de bovinos de la raza limousine (Dacasto y col., 2004). Trabajos previos, realizados en ganado bovino de diferentes edades indican que no influye el género en la respuesta cinética, sin embargo la gran variabilidad observada, típica de una administración *pour-on*, podría enmascarar el proceso (Picco y col., 2008; Picco, 2009).

Además de las diferencias en la actividad de las isoenzimas del sistema microsomal CYP 450, se han descrito diferencias en las reacciones de conjugación de fase II. Se ha sugerido que la actividad de UDP-glucuronil transferasa y de sulfotransferasas es superior en hombres que en mujeres.

Previamente, algunos autores (Ma y Chambers, 1994) han observado que en ratas la activación de clorpirifós mediada por CYP era mayor en machos que en hembras, sin embargo, Dalvi y colaboradores (2004) encontraron en microsomas hepáticos de ratas una mayor capacidad para activar al clorpirifós mediada por la isoenzima CYP1A1 en hembras que en machos lo cual justificaría la mayor inhibición enzimática reportada en hembras para estos roedores, como expusimos anteriormente. En estudios desarrollados con microsomas hepáticos humanos, se demostró que las hembras presentan una mayor desarilación y desulfuración de clorpirifós en microsomas hepáticos humanos que en machos; aunque debemos señalar que este estudio se realizó en microsomas obtenidos sólo de una muestra poblacional de 10 individuos de cada sexo (Tang y col., 2006).

En animales de laboratorio se han encontrado diferencias en la actividad de la carboxilesterasa en función del sexo, ya que la actividad de CbE en microsomas hepáticos de las ratas es aproximadamente la mitad de la que presentan los machos, en tanto que no se presentan diferencias en la actividad de CbE a nivel plasmático (Moser y col., 1998).

5. BIBLIOGRAFÍA

- Baggot, J.D. (2001). *The physiological basis of veterinary clinical pharmacology*. Blackwell Sciences Ltd. London, United Kingdom. pp. 288.
- Barry, B.W. (2001). *Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery*. Eur. J. Pharm. Sci. 14: 101-114.
- Bronaugh, R.L. y Maibach, H.I. (1999). *Percutaneous Absorption*. 3ª Edición. Marcel.
- Buss, D.S.; McCaffery, A.R. y Callaghan, A. (2002). *Evidence for p-glycoprotein modification of insecticide toxicity in mosquitoes of the Culex pipiens complex*. Med Vet Entomol., 16(2): 218-222.
- Capece, B.P.; Castells, G.; Pérez, F.; Arboix, M. y Cristófol C. (2000). *Pharmacokinetic behaviour of albendazole sulphoxide enantiomers in male and femalesheep*. Vet. Res. Commun. 24: 339-348.
- Costa, L.G. (2006). *Current issues in organophosphate toxicology*. Clin. Chim. Acta. 366: 1-13.
- Cristófol, C.; Navarro, M.; Franquelo, C.; Valladares, J. y Arboix, M. (1998). *Sex differences in disposition of albendazole metabolites in sheep*. Vet. Parasitol. 78: 223-231.
- Dacasto, M.; Eeckhoutte, C.; Capolongoa, F.; Dupuy, J.; Carletti, M.; Calléja, C.; Nebbia, C.; Alvinerie, M. y Galtier, P. (2005). *Effect of breed and gender on bovine liver cytochrome P450 3A (CYP3A) expression and inter-species comparison with other domestic ruminants*. Vet. Res. 36: 179-190.
- Dalvi, R.R.; Dalvi, P.S. y Lane, C. (2004). *Cytochrome P450-mediated activation and toxicity of chlorpyrifos in male and female rats*. Vet. Hum. Toxicol., 46(6):297-299.
- Fukuto, T.R. (1990). *Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides*. Environ. Health Perspect. 87: 245-254.
- Gandhi, M.; Aweeka, F.; Greenblatt, R.M. y Blaschke, T.F. (2004). *Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 44:499-523.
- Gaustad, R.; Johnsen, H.; Fonnum, F. (1991). *Carboxylesterases in guinea pig. A comparison of the different isoenzymes with regard to inhibition by organophosphorus compounds in vivo and in vitro*. Biochem. Pharmacol. 42:1335-1343.
- Griffin, P.; Payne, M.; Mason, H.; Freedlander, E.; Curran, A. y Cocker, J. (2000). *The in vitro percutaneous penetration of chlorpyrifos*. Hum. Exp. Toxicol. 19: 104-107.
- IPCS INCHEM. International Programme of Chemical Safety. (1999). *Chlorpyrifos. Toxicological Evaluations* <http://www.inchem.org>
- Kaltenbach, M. y Dukic, S. (2003). *Sex-related differences in human pharmacokinetics and pharmacodynamics*. XX vs. XY. 1: 60-63.
- Karanth, S. y Pope, C. (2000). *Carboxylesterase and A-esterase activities during maturation and aging: relationship to the toxicity of chlorpyrifos and parathion in rats*. Toxicol. Sci. 58: 282-289.
- Kielhorn, J.; Melching-Kollmuss, S. y Mangelsdorf, I. (2006). *Dermal absorption* World Health Organization. Switzerland, pp 1-192.
- Koley, K.M.; Chakraborty, A.K.; Choudhury, A.; Bhattacharyya, A.; Mandal, T.K.; Juliet, S. (1997). *Toxicokinetic and residue studies of chlorpyrifos following oral administration in goats*. J. Vet. Pharmacol. Therap. 20, Suppl. 1, 287.
- Lanning, C.L.; Fine, R.L.; Sachs, C.W.; Rao, U.S.; Corcoran, J.J. y Abou-Donia, M.B. (1996). *Chlorpyrifos oxon interacts with the mammalian multidrug resistance protein, P-glycoprotein*. J. Toxicol. Environ. Health., 47(4): 395-407.
- Ma, J.; Graves, J.; Bradbury, J.A.; Zhao, Y.; Swope, D.L.; King, L.; Qu, W.; Clark, J.; Myers, P.; Lindzey, J.; Korach, K.S. y Zeldin, D.C. (2004). *Regulation of mouse renal CYP2J5 expression by sex hormones*. Mol. Pharmacol. 65, 730-743.
- Ma, T. y Chambers, J.E. (1994). *Kinetic parameters of desulfuration and dearylation of parathion and chlorpyrifos by rat liver microsomes*. Food. Chem. Toxicol., 32: 763-767.
- Mattsson, J.L.; Maurissen, J.P.; Nolan, R.J. y Brzak, K.A. (2000). *Lack of differential sensitivity to cholinesterase inhibition in fetuses and neonates compared to dams treated perinatally with chlorpyrifos*. Toxicol. Sci. 53: 438-446.
- Meibohm, B.; Beierle, I. y Derendorf, H. (2002). *How important are gender differences in pharmacokinetics*. Clin. Pharmacokinet. 41, 329-342.
- Monteiro-Riviere, N.A.; Bristol, D.G.; Manning, T.O.; Rogers, R.A. y Riviere J.E. (1990). *Interspecies and interregional analysis of the comparative histologic thickness and laser Doppler blood flow measurements at five cutaneous sites in nine species*. J. Invest. Dermatol. 95: 582-586.

- Moser, V.C. (2000). *Dose-response and time-course of neurobehavioral changes following oral chlorpyrifos in rats of different ages*. Neurotoxicol. Teratol. 22: 713-723.
- Moser, V.C.; Chanda, S.M.; Mortensen, S.R. y Padilla, S. (1998). *Age- and gender-related differences in sensitivity to chlorpyrifos in the rat reflect developmental profiles of esterase activities*. Toxicol. Sci. 46: 211-222.
- Muralidharan, M. (2006). *Certain factors influencing the skin thickness in exotic cattle*. Tamilnadu J. Vet. An. Sci. 2: 93-95.
- Nolan, R.J.; Rick, D.L.; Freshour, N.L. y Saunders, J.H. (1984). *Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 73: 8-15.
- Nouws, J.F. (1992). *Pharmacokinetics in immature animals: a review*. J. Anim. Sci. 70: 3627-3634.
- Padilla, S.; Buzzard, J. y Moser, V.C. (2000). *Comparison of the role of esterases in the differential age-related sensitivity to chlorpyrifos and methamidophos*. Neurotoxicology. 21: 49-56.
- Picco, E. J. (2009). *Influencia de los estados fisiológicos en la disposición cinética de clorpirifós en bovinos*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Litoral.
- Picco, E.J.; Fernández, H.R.; Díaz David, D.C.; San Andrés, M.I.; Boggio, J.C.; Rodríguez, C. (2008b). *Use of cholinesterase activity in monitoring chlorpyrifos exposure of steer cattle after topical administration*. J. Environ. Sci. Health B. 43: 405-409.
- Picco, E.J.; Rubio, M.R.; Díaz David, D.C.; Rodríguez, C.; Boggio, J.C. (2008a). *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of chlorpyrifos in male and female cattle after topical administration*. Vet. Res. Commun. 32(5):401-410.
- Pope, C.N.; Karanth, S.; Liu, J. y Yan, B. (2005). *Comparative carboxylesterase activities in infant and adult liver and their in vitro sensitivity to chlorpyrifos oxon*. Regul. Toxicol. Pharmacol. 42: 64-69.
- Rodríguez, A. M. y Trujillo, S. (2008) *La piel como vía de administración de fármacos formulados en parches transdérmicos*. Parte 1: la piel, su estructura y funcionamiento. Rev. OFIL. 18:49-53.
- Schwark, W.S. (1992). *Factors that affect drug disposition in food producing animals during maturation*. J Anim. Sci. 70: 3635-3645.
- Schwartz, J.B. (2003). *The influence of sex on pharmacokinetics*. Clin. Pharmacokinet. 42: 107-121.
- Smith, G.N.; Watson, B.S. y Fischer, F.S. (1967). *Investigations on Dursban insecticide. Metabolism of [36Cl] O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothiate in rats*. Agric. Food Chem., 15: 132-138.
- Szotáková, B.; Baliharová, V.; Lamka, J.; Wsól, V.; Velik, J.; Machala, M. Neca, J.; Soucek, P.; Susová, S. y Skálová, L. (2004). *Comparison of in vitro activities of biotransformation enzymes in pig, cattle, goat and sheep*. Res. Vet. Sci. 76(1): 43-51.
- Tang, J.; Rose, R. y Chambers, J. (2006). *Metabolism of organophosphorus and carbamate pesticides*. En: *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*. (Ed.: Gupta, R.). Elsevier Academic Press, California, United States of America, p 127-143.
- Taylor, D.C.; McEwan, A.D. y Burke, W.M. (1983). *Cutaneous application of levamisole to cattle: variations in bioavailability related to season and ambient temperature*. Vet. Rec. 112: 481.
- Timchalk, C.; Kousba, A.A. y Poet, T.S. (2007). *An age-dependent physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus insecticide chlorpyrifos in the preweaning rat*. Toxicol. Sci. 98(2): 348-365.
- United States Environmental Protection Agency. (2002). *Chlorpyrifos Facts*, EPA 738-F-01-006. http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDS/factsheets/chlorpyrifos_fs.htm
- Valentin, J. (2001). *Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values* - International Commission on Radiological Protection. Annals of the ICRP Publication 89, Pergamon, Elmsford, NY.
- Villarino, N.; Landoni, M.F. (2006). *Administración transdérmica de fármacos: una alternativa terapéutica*. A. Vet. 26: 28-37
- Yuan, J (1994). *Toxicokinetics of Chlorpyrifos in F344 Rats and B6C3F1 Mice*. RISP/94/S21177-02. United State Department of Health and Human Services; National Institute of Environmental Health Sciences.