

## ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS OVÁRIOS DE RATAS (*RATTUS NORVEGICUS ALBINUS*) TRATADAS COM IVERMECTINA

J.P. Medeiros<sup>1</sup>, L. Baratella-Evêncio<sup>2</sup>, M.J. Simões<sup>3</sup>, J. Evêncio-Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/nº, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: evencio@ufrpe.br

### RESUMO

A ivermectina pertence ao grupo das avermectinas que são anti-helmínticos quimicamente catalogados, produzidos pela fermentação de um actinomiceto. O mecanismo de ação é potencializar o GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico). O GABA tem sido um estimulador no efeito da secreção do hormônio luteinizante (LH). Neste trabalho, teve-se o objetivo de avaliar a morfologia e o peso dos ovários de ratas tratadas com ivermectina. Foram utilizadas 70 ratas albinas divididas em sete grupos, cada um constituído por 10 animais, recebendo diferentes dosagens, de 0,5 mg/kg até 10,0 mg/kg de ivermectina via oral. Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo (água destilada) que acompanha a embalagem da ivermectina. Estes animais foram tratados durante 45 dias, com administração do medicamento a cada três dias, para cada animal. Após esse período foi feita a retirada dos ovários que foram pesados em balança analítica, e em seguida o material foi processado para microscopia de luz. Os resultados obtidos indicam que a ivermectina não provoca alterações significativas na morfologia nem no peso dos ovários de ratas tratadas.

PALAVRAS-CHAVE: Ivermectina, ovário, ratos.

### ABSTRACT

MORPHOLOGIC ASPECTS OF THE OVARY OF RATS (*RATTUS NORVEGICUS ALBINUS*) TREATED WITH IVERMECTIN. Ivermectin belongs to the group of avermectins that are catalogued as antihelmintic substances, resulted from fermentation of one actinomicet. The mechanism of action consists in the potentialization of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid). GABA is a stimulator of luteinizing hormone (LH) secretion. This paper aims to evaluate the weight and the morphological aspects of ovary of rats treated with ivermectin. We used 70 albino rats divided into groups of seven, with 10 animals each, that received different dosages of ivermectin (0.5 mg/kg up to 10.0 mg/kg) orally administrated. The animals kept as control received distilled water (vehicle of ivermectin) only. These animals were treated during 45 days, with administration of the medicament at three-day intervals for each animal. After this period ovaries were withdrawn, weighted and subsequently processed for light microscopy. Our results demonstrated that the ivermectin does not provoke significant alterations in the ovary morphology or weight of treated rats.

KEY WORDS: Ivermectin, ovary, rats.

### INTRODUÇÃO

A ivermectina pertence ao grupo das avermectinas que são anti-helmínticos quimicamente catalogados, produzidos pela fermentação de um actinomiceto (BURG *et al.*, 1979). O actinomiceto, denominado *Streptomyces avermitilis*, foi isolado originalmente de uma amostra de solo no Japão (BOOTH & MACDONALD, 1992). Esta

droga possui uma ampla eficácia contra nematóides e muitos artrópodes (CAMPBELL & BENZ, 1984).

O mecanismo de ação é potencializar o GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) que é um neurotransmissor inibitório, provocando assim uma paralisia flácida e expulsão do parasita. Há evidências que tênias (cestódeos) e fascíolas (trematódeos) não possuem o GABA como neurotransmissor, portanto, esse grupo

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Histologia e Embriologia, Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Departamento de Morfologia, São Paulo, SP, Brasil.

de drogas não tem ação sobre elas, apenas contra nematódeos e ectoparasitas (ANDRADE, 1997). O GABA tem sido um estimulador no efeito da secreção de LH (VIRMANI *et al.*, 1990). Segundo McCANN *et al.* (1984) e McCANN & RETTORI (1988) o GABA está envolvido diretamente na secreção de LH ao nível da hipófise, via liberação de fatores hipotalâmicos.

O uso da ivermectina na reprodução de novilhas tem mostrado efeitos positivos, reduzindo o início da puberdade (PURVIS & WHITTIER, 1996). Segundo MEJÍA *et al.* (1999) o tratamento com a ivermectina revela aumento no desenvolvimento e no começo da função ovariana. Os efeitos podem ser através de modulação direta de receptores de GABA no ovário ou com desenvolvimento dos folículos ou ainda sistematicamente pela modulação de hormônios metabólicos (SCHAEFFER & HSUEH, 1982; ERDO *et al.*, 1989).

O efeito da ivermectina em ratas prenhes, administrando doses de 0,4; 1,2 e 3,6 mg/kg de peso dia, por via oral e por um período de 70 dias, mostrou haver toxicidade em neonatos de várias gerações, aumento na mortalidade de filhotes até 10 dias de idade e diminuição no peso dos filhotes sobreviventes. Nesta mesma pesquisa, observaram que a média de peso das fêmeas não foi alterada, quando submetidas a tratamento durante a gestação e lactação, e o período de gestação também não foi alterado nas ratas tratadas (LANKAS *et al.*, 1989).

A toxicidade em ratos recém nascidos é evidente quando estes recebem dosagens altas de 7,5 mg/kg/dia do 6° ao 20° dia de gestação. Os resultados mostraram que a mortalidade no período pós-natal não foi diretamente relacionada ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica e sim ao consumo de leite deste animais, já que a ivermectina foi largamente eliminada pelo leite (POUL & ABJEAN, 1993).

ELBETIEHA & DA'AS (2003), avaliaram a redução da fertilidade em ratos tratados com a abamectina, fármaco do mesmo grupo da ivermectina, e descreveram que houve um aumento no peso dos testículos de animais que ingeriram 2,13 mg/kg/dia durante seis semanas. Os testículos destes animais apresentaram anormalidades como congestão dos vasos sanguíneos, hemorragia e significativo acúmulo de tecido conjuntivo circundando os túbulos seminíferos.

Baseado na literatura acima que refere ser a ivermectina uma droga que pode influenciar no processo reprodutivo, objetivou-se no presente trabalho avaliar a morfologia e o peso dos ovários de ratas, que receberam diferentes dosagens de ivermectina.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 70 ratas albinas da linhagem wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia,

Mammalia), adultas, virgens e púberes, pesando entre 200 e 220 g. Após um período de adaptação, foram realizados esfregaços vaginais para a determinação da regularidade do ciclo estral. Os animais que apresentaram três ciclos estrais regulares foram divididos em sete grupos, cada um constituído por 10 animais, distribuídos da seguinte maneira: Grupo I - ratas controle, tratadas com o veículo (água destilada) da ivermectina; Grupo II - ratas tratadas com 0,5 mg/kg de ivermectina, Grupo III - ratas tratadas com 1,0 mg/kg de ivermectina, Grupo IV - ratas tratadas com 2,0 mg/kg de ivermectina, Grupo V - ratas tratadas com 4,0 mg/kg de ivermectina, Grupo VI - ratas tratadas com 8,0 mg/kg de ivermectina e Grupo VII - ratas tratadas com 10,0 mg/kg de ivermectina.

Os animais foram tratados durante 45 dias, com administração do medicamento (Ivomec® solução oral a 0,08% para ovinos e caprinos), por via oral, a cada 3 dias; a administração foi feita por gavagem. Após esse período os animais foram anestesiados utilizando-se na medicação pré-anestésica sulfato de atropina a 0,125 mg/mL. Para cada animal foi administrado 0,2 ml por via intramuscular. Foi feita anestesia dissociativa utilizando cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10% à dose de 0,2 mL por animal, administrados também por via intramuscular. Posteriormente, foi feita a incisão da cavidade abdominal sobre a linha alba, do púbis até a cartilagem xifóide, para exposição do conteúdo abdominal. Neste procedimento foram retirados os ovários que foram fixados em líquido de BOUIN por 24h. Em seguida os animais foram eutanasiados por aprofundamento do plano anestésico. Todos os procedimentos foram aprovados pela comissão de pesquisa, ética e experimentação animal do DMFA-UFRPE. Em seguida os fragmentos foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59 °C e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo *Minot*, ajustado para 5 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ). Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de MAYER e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37° C, durante 24h, para secagem e colagem. Em seqüência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela hematoxilina-eosina (H.E). A análise morfológica e documentação fotográfica foi feita em fotomicroscópio Olympus BX-41.

Os resultados foram avaliados por Análise de Variância, quando significativa esta foi complementada pelo teste de Comparações Múltiplas Tukey e Kramer. Os dados foram tabulados e processados em programa estatístico Instat. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ( $\alpha \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à morfologia dos ovários, observou-se, que todos os grupos apresentavam estruturas morfológicas sem alterações (Fig. 1).

Os resultados também revelaram presença de folículos ovarianos sem alterações morfológicas (Fig. 2).

Os ovários foram pesados, e a análise estatística do peso dos ovários não revelou diferença significativa entre os grupos experimentais (Tabela 1).

Avaliando os resultados pode-se observar que a ivermectina, nas doses e tempo utilizado não exerce influência na morfologia dos ovários de ratas. Estes resultados diferem dos relatados por ERDO *et al.* (1989) que encontraram altas concentrações de glutamato descarboxilase (GAD) desde o desenvolvimento folicular, sugerindo um papel fundamental do GABA sobre o desenvolvimento ovariano. Os achados também não estão de acordo com MEJÍA (1999), quando afirma que o tratamento com a ivermectina revelou aumento no desenvolvimento e no início da função ovariana. Corroborando com estes dados, MARTIN DEL RIO & CABALLERO (1980) e SCHAEFFER & HSUEH (1982), relatam que a ivermectina pode influenciar a reprodução, estimulando o desenvolvimento folicular ovariano, afirmam também que os efeitos podem ser através da modulação direta de receptores de GABA no ovário ou no desenvolvimento dos folículos ovarianos.

Acredita-se que as divergências entre resultados obtidos no presente trabalho e os relatados por MARTIN DEL RIO & CABALLERO (1980), SCHAEFFER & HSUEH (1982), ERDO *et al.* (1989) e MEJÍA (1999), sejam explicadas pela diferença nas dosagens utilizadas e no tempo do tratamento, como também nas espécies utilizadas que foram diferentes.

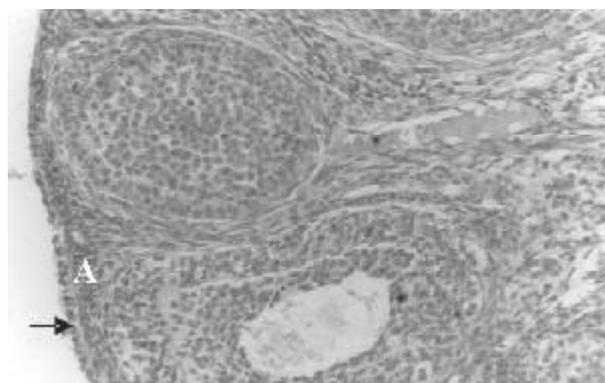


Fig. 1 - Fotomicrografia de parte do ovário de rata do grupo V. Observar epitélio de revestimento simples cúbico em sua maior extensão e pavimentoso (seta) em certas áreas, logo abaixo encontra-se a albugínea sem alterações (A). Coloração H-E. Aumento  $\pm 107X$ .

Tabela 1 - Média e desvio padrão (DP) do peso (g) dos ovários de ratas tratadas com ivermectina.

Grupos (n=10)	GI	GII	GIII	GIV	GV	GVI	GVII
Média	0,08 $\pm$ 0,08	0,08 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,07
DP	0,009	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,009

Análise de Variância ( $p > 0,05$ )

Os resultados obtidos, somam-se aos relatados por LANKAS *et al.* (1989), quando afirmam que a administração de ivermectina por um longo período (70 dias) não altera o peso das fêmeas e nem causa alterações no período de gestação e lactação. Porém estes mesmos autores não recomendam a utilização de ivermectina no período de gestação e lactação, pois segundo estes autores este fármaco pode causar um aumento da mortalidade de filhotes até 10 dias de idade.

## CONCLUSÃO

Baseados resultados obtidos pode-se concluir que a ivermectina não provoca alterações significativas na morfologia e no peso dos ovários de ratas tratadas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo importante suporte financeiro.

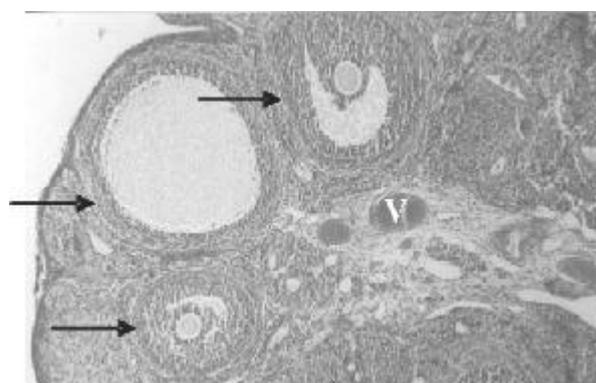


Fig. 2 - Fotomicrografia de parte do ovário de rata do grupo II. Observar regiões: cortical, rica em folículos ovarianos (setas), e medular rica em vasos sanguíneos (V). Coloração H-E. Aumento  $\pm 107X$ .

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. F. *Manual de terapêutica veterinária*. São Paulo: Roca, 1997. p.344-359.
- BOOTH, N.H. & McDONALD, L. E. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. v.55, p.740-741.
- BURG, R. W.; MILLER, B. M.; BAKER, E. E.; BIRNBAUM, J.; CURRIE, S. A.; HARTMAN, R.; KONG, T. L.; MONAGHAN, R. L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J. B.; WALLICK, H.; STAPLEY, E. O.; OIWA, R.; O MURA, S. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, v.15, p.361-367, 1979.
- CAMPBELL, W.C. & BENZ, G.W. Ivermectin a review of efficacy and Safety. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics*, v.7, p.1-16, 1984.
- ELBETIEHA, A. & DA'AS, S.I. Assessment of antifertility activities of abamectin pesticide in male rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.55, n.3, p.307-313, 2003.
- ERDO, S.L. High affinity, sodium-dependent gamma-aminobutyric acid uptake by slices of rat ovary. *Journal of Neurochemistry*, v.40, p.582-584, 1983.
- ERDO, S.L.; FERENC, J.; WOLLE, J.R. Immunohistochemical localization of glutamate decarboxylase in rat oviduct and ovary: Further evidence for non- neural GABA systems. *Cell and Tissue Research* v.255, p.431-434, 1989.
- ERDO, S.L. & LASZIO, A. High specific gamma- aminobutyric acid binding to membrane of the human ovary. *Journal of Chemistry*, v.42, p.1464-1467, 1984.
- MARTIN DEL RIO, R. & CABALLERO, A. Presence of gamma-aminobutyric acid in rat ovary. *Journal Neurochemistry*, v.34, p.1584-1586, 1980.
- McCANN, S.M. & REITTORI, V. The role of gammaaminobutyric acid (GABA) in the control of anterior pituitary hormone secretion. In: SQUIRES, R.F (Ed.). *GABA and Benzodiazepine receptors*. Boca Raton: CRC Press, 1988.
- McCANN, S.M.; VIJAYAN, E.; NEGRO, V.A.; MIZUNUMA, H.; MANGAT, H. Gamma aminobutyric acid (GABA), a modulator of anterior pituitary hormone secretion by hypothalamic and pituitary action. *Psychoneuroendocrinology*, v.9, p.97-106, 1984.
- MEJÍA, M.; GONZALEZ-IGLESIAS, A.; DIAZ-TORGA, G.S.; VILLAFANE, P.; FORMÍA, N.; LIBERTUM, C.; BECÚ-VILLALOBOS, D.; LACAUMENGIDO, I.M.. Effects of continuous ivermectin treatment from birth to puberty on growth and reproduction in dairy heifers. *Journal of Animal Science*, v.77, n.6, p.1329-1334, 1999.
- POUL, J.M. & ABEAN, J.P. Ivermectin toxicity in the newborn rat. *Recueil-de-Medicine-Veterinaire*, v.169, n.1, p.47-52, 1993.
- PURVIS, H.T. & WHITTIER, J.C. Effects of ionophore feeding and anthelmintic administration on age and weight at puberty in spring- born beef heifers. *Journal of Animal Science*, v.74, p.736-744, 1996.
- SCHAEFFER, J.M. & HSUEH, A. J. Identification of gamma aminobutyric acid and its binding sites in the rat ovary. *Life Science*, v.30, p.1599-1604, 1982.
- VIRMANI, M.A.; STOJILKOVIC, S.S.; CATT, K.J. Stimulation of luteinizing hormone release by gamma aminobutyric acid (GABA) agonist: Mediation by GABA- A type receptors and activation of chloride and voltage-sensitive calcium channels. *Endocrinology*, v.126, p.2499-2505, 1990.

Recebido em 31/10/05

Aceito em 22/5/06