

EFEITO DO TRATAMENTO DA IVERMECTINA SOBRE OS PERÍODOS DE GESTAÇÃO E LACTAÇÃO DE RATOS (*RATTUS NORVEGICUS ALBINUS*)**J.P. Medeiros<sup>1</sup>, L. Baratella-Evêncio<sup>2</sup>, R.S. Simões<sup>3</sup>, L.E. Luz<sup>1</sup>, L.R.M. Estevão<sup>1</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 Manuel de Medeiros, s/nº, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil. E-mail: evencio@dmfa.ufrpe.br

## RESUMO

A ivermectina pertence ao grupo das avermectinas que são anti-helmínticos quimicamente relacionados, produzidos pela fermentação do *Streptomyces avermitilis*. A avaliação de efeitos tóxicos de um fármaco inclui a avaliação de sua toxicidade sobre o organismo materno, pois qualquer alteração metabólica que ocorra nele, reflete-se no desenvolvimento do embrião ou feto. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento da ivermectina sobre os períodos de gestação e lactação em ratos. Foram utilizadas 70 ratas albinas divididas em sete grupos, cada um constituído por 10 animais, recebendo dosagens que variaram de 0,5 mg/kg a 10 mg/kg de ivermectina via oral. Os animais foram tratados durante 36 dias, com administração do medicamento a cada 3 dias, totalizando 13 doses. Os animais do grupo controle receberam apenas o veículo (água destilada) da ivermectina, no mesmo período. Os animais foram acasalados e após a detecção da prenhez, foram tratados com ivermectina ou veículo, nas doses correspondentes a cada grupo, durante toda a gestação e até o 15º dia da lactação. Ao nascimento, os neonatos foram contados, pesados e analisados quanto à existência de defeitos congênitos e mortalidade. Nossos resultados revelaram que a ivermectina, não causou mortalidade, dificuldade do desenvolvimento locomotor ou retardo no aparecimento de pêlos (9º dia), na erupção dos dentes (12º dia) e na abertura dos olhos (15º dia) dos neonatos. Com estes resultados podemos concluir que, os tratamentos com ivermectina nos períodos da gestação e lactação, não revelaram aparecimento de defeitos congênitos, mortalidade, alterações significativas no número da prole, porém mostrou diferenças estatísticas com relação ao peso corporal dos neonatos.

PALAVRAS-CHAVE: Ivermectina, gestação, lactação, ratos.

## ABSTRACT

EFFECT OF TREATMENT BY IVERMECTIN ON PREGNANCY AND LACTATION PERIODS OF RATS (*RATTUS NORVEGICUS ALBINUS*). Ivermectin belongs to the group of the avermectins, which are anthelmintic substances produced by *Streptomyces avermitilis* fermentation. The evaluation of toxic effects by drugs includes their toxicity on the maternal organism, where any metabolic alterations can reflect on the development of the embryo. The aim of this study was to evaluate the effects of treatment by ivermectin on pregnancy and lactation periods of rats. We used 70 rats divided in 7 groups with 10 animals each that received different dosages of ivermectin, which varied from 0.5 mg/kg to 10 mg/kg, by oral route. The animals were treated for 36 days, with administration of the medicine every 3 days, totaling 13 administrations for each animal. The control animals received only distilled water (the vehicle of the ivermectin) during the same period. The animals were mated and after the detection of the pregnancy, treated with ivermectin or vehicle, in the corresponding doses for each group, during the entire gestation period and until the 15th postnatal day. The newborns were counted, weighed and analyzed for the existence or not of congenital defects and mortality. The results demonstrated that the treatment with ivermectin was not associated with the presence of congenital defects, significant mortality, or alterations in the number of newborns. However, it was associated with significant alterations in weight gain during the lactation period.

KEY WORDS: Ivermectin, gestation, lactation, rats.

<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.

## INTRODUÇÃO

A ivermectina é uma droga antiparasitária de largo espectro, registrada em mais de 60 países. É administrada em bovinos, caprinos, ovinos, suínos, eqüinos, camelos, rena e cães (DI NETTA, 1989). Resíduos de ivermectina podem ser encontrados na musculatura, nas vísceras, na gordura e no leite dos animais tratados (LOBATO *et al.*, 2004).

Esta droga é bem tolerada pelos seres humanos e outros mamíferos não infestados. Em animais pode ocorrer, sinais de toxicidade do sistema nervoso central, incluindo letargia, ataxia, midríase, tremores e por fim morte. Ocorre morte apenas em doses muito altas; os cães, em particular os da raça Collie, são especialmente vulneráveis (CAMPBELL; BENZ, 1984).

Várias espécies de animais são utilizadas como modelos experimentais na determinação de agentes toxicológicos. AMANN (1970) considera o rato e o camundongo espécies apropriadas à investigação em laboratório devido às suas características reprodutivas bem conhecidas e ao desempenho reprodutivo, além do seu tamanho adequado e a uniformidade das linhagens. Os ratos recém-nascidos não possuem a barreira hematoencefálica totalmente formada, o que facilita o aparecimento de intoxicações causadas por medicamentos. Drogas que causam toxicidade materna, quando administradas durante o período de lactação podem alterar o comportamento materno e impedir que as crias sejam cuidadas adequadamente afetando assim o seu desenvolvimento e inclusive reduzindo suas chances de sobrevivência (GUERRA *et al.*, 2000).

A avaliação de efeitos tóxicos de um fármaco inclui pesquisas para avaliar sua toxicidade sobre o organismo materno, pois qualquer alteração metabólica que ocorra nele, reflete-se no desenvolvimento do embrião ou feto. Neste sentido são utilizadas diversas abordagens, entre elas, a ocorrência de mortes, presença de piloereção, de diarreia, redução da atividade locomotora e do peso corporal no 2º, 7º e 15º dias de lactação, consideradas indicadores clínicos de toxicidade materna (MASON; KANG, 1994). A relação da ivermectina com o sistema reprodutor, a penhez e a lactação de ratas vem sendo estudada por alguns autores (AZIZ, 1986; POUL, 1988; LANKAS *et al.*, 1989; MASON; KANG, 1994, MEDEIROS *et al.*, 2006). A administração de ivermectina nas dosagens de 1 a 10 mg/kg de peso por períodos mais longos (45 dias), porém sem aplicação diária (3 em 3 dias) antes do acasalamento não resulta em modificações morfológicas no ovário de ratas (MEDEIROS *et al.*, 2006).

LANKAS *et al.* (1989) estudaram o efeito da ivermectina em ratas prenhes e lactantes, administrando doses de 0,2, 0,4 e 1,2 mg/kg/dia, por via oral, do 1º dia de gestação até o 20º dia de lactação. Estes

autores relataram haver toxicidade em neonatos de várias gerações que receberam 0,4 e 1,2 mg/kg/dia, com aumento na mortalidade de filhotes até 10 dias de idade e diminuição no peso dos filhotes sobreviventes. Já os animais que receberam a dose 0,2 mg/kg/dia não apresentaram alterações na prole. Relatam ainda que a toxicidade neonatal foi devido a exposição da droga pós-natal através do leite e não pela exposição *in útero*.

POUL (1988) realizou um estudo com ratas prenhes, onde utilizou ivermectina do 6º ao 20º dia de gestação e do 2º ao 20º dia de lactação, nas doses de 1 e 2 mg/kg/dia, por via oral. A dose de 2 mg/kg/dia induziu mortalidade na prole de 31%, retardo no crescimento e desenvolvimento. Já com 1 mg/kg/dia não houve mortalidade nem retardo no crescimento, apresentando apenas leve retardo no desenvolvimento locomotor. Os recém-nascidos foram susceptíveis a neurotoxicidade provavelmente devido à imaturidade da barreira hematoencefálica.

Em um experimento onde foi incorporada na dieta de ratas prenhes a dose de 5 mg/kg, por via oral diariamente, a partir do 2º dia de gestação; foi observado que todos os recém-nascidos morreram no 1º ou no 2º dia pós-parto. Neste trabalho AZIZ (1986) referiu-se a sensibilidade elevada dos ratos neonatos foi causada pela via do leite materno, devido a barreira hematoencefálica estar incompleta.

Na literatura consultada notamos haver controvérsias quanto ao uso da ivermectina no período gestacional e lactação, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento da ivermectina sobre o período de gestação e lactação em ratos.

## 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, provenientes do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Após um período de adaptação, foram realizados esfregaços vaginais para a determinação da regularidade do ciclo estral. Os animais que apresentaram 3 ciclos estrais regulares (SIMÕES, 1979), foram divididos em 7 grupos, cada um constituído por 10 animais, as doses administradas, foram calculadas baseando-se na concentração do medicamento e no peso do animal, 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 mg/kg de ivermectina, Grupo IV - Ratas tratadas com 2 mg/kg de ivermectina,

Grupo V - Ratas tratadas com 4 mg/kg de ivermectina, Grupo VI - Ratas tratadas com 8 mg/kg de ivermectina e Grupo VII - Ratas tratadas com 10 mg/kg de ivermectina.

Os animais foram colocados para acasalar e após a detecção da prenhez, presença de espermatozoides no esfregaço vaginal realizado na manhã do dia seguinte, foi considerado como o primeiro dia de gestação (LANKAS *et al.*, 1989), cada animal foi tratado com ivermectina, na dose correspondente a cada grupo. Os animais foram tratados durante 20 dias de gestação até 15 dias de lactação, com administração do medicamento (Ivomec® solução oral a 0,08% para ovinos e caprinos), por via oral, a cada 3 dias, 7 administrações na gestação e 6 na lactação, totalizando 13 administrações para cada animal; a administração foi feita por gavagem. Os animais do GI passaram pelos mesmos procedimentos, recebendo apenas o veículo da Ivermectina. Ao nascimento, os neonatos, foram contados, pesados em balança de precisão (Mettler Toledo - Modelo AB204) e analisados quanto à existência de defeitos congênitos e mortalidade. Os neonatos foram pesados novamente aos 7 e 15 dias. Os dados obtidos foram submetidos a análise de Variância complementado pelo teste de Comparações Múltiplas de Tukey-Kramer. O nível de significância adotado foi  $p \leq 0,05$ .

Ao término do experimento estes animais foram anestesiados utilizando-se na medicação pré-

anestésica sulfato de atropina a 0,125 mg/mL. Para cada animal foi administrado 0,1 mL por via intramuscular. Na anestesia foi utilizado cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de quetamina a 10%, sendo aplicado 0,1 mL por animal por via intramuscular. Logo após os animais foram eutanasiados por aprofundamento do plano anestésico. Todos os procedimentos foram previamente aprovados pela Comissão de Pesquisa, Ética e Experimentação Animal do DMFA-UFRPE.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados revelaram que a ivermectina administrada na gestação e durante 15 dias de lactação, não causou mortalidade, dificuldade do desenvolvimento locomotor ou retardo no aparecimento de pêlos (9º dia), na erupção dos dentes (12º dia) e na abertura dos olhos (15º dia) dos neonatos, estando em desacordo com os achados de MANTOVANI (1992) e WISE *et al.* (1997). MANTOVANI (1992) estudou várias gerações de ratos sob a ação da ivermectina, utilizando dosagens de 0,4, 1,2 e 3,6 mg/kg/dia, onde mostrou que em dosagens altas ocorre 90% de mortalidade neonatal na 1ª geração e em dosagens baixas na 2ª geração. WISE *et al.* (1997), mostrou que a ivermectina administrada em níveis de doses de 2,5-3,6 mg/kg/dia, por via oral, durante a lactação provoca neurotoxicidade na prole.

Tabela 1 - Média (X) e desvio padrão (DP) do peso (g) dos neonatos no 1º dia de lactação.

	1º Dia de lactação						
	GI (n = 44)	GII (n = 42)	GIII (n = 40)	GIV (n = 41)	GV (n = 39)	GVI (n = 40)	GVII (n = 39)
X ± DP	8,2 ± 0,5	7,5 ± 1,0	7,3 ± 0,5	7,1 ± 0,9	6,9 ± 0,7	6,5 ± 0,9	6,2 ± 0,4

Análise de Variância ( $p \leq 0,01$ ).

Testes de Comparações Múltiplas (Teste de Tukey-Kramer).

GI > GII, GIII, GIV, GV, GVI e GVII

GII, GIII, GIV > GVI e GVII

GV > GVII

Tabela 2 - Média (X) e desvio padrão (DP) do peso (g) dos neonatos no 7º dia de lactação.

	7º Dia de lactação						
	GI (n = 44)	GII (n = 42)	GIII (n = 40)	GIV (n = 41)	GV (n = 39)	GVI (n = 40)	GVII (n = 39)
X ± DP	16,8 ± 1,11	16,0 ± 0,9	15,7 ± 1,21	14,2 ± 1,0	12,6 ± 1,7	12,5 ± 1,2	9,29 ± 0,3

Análise de Variância ( $p \leq 0,01$ ).

Testes de Comparações Múltiplas (Teste de Tukey-Kramer).

GI, GII > GIV, GV, GVI e GVII

GIII > GV, GVI e GVII

GVII < GI, GII, GIII, GIV, GV, GVI

Tabela 3 - Média (X) e desvio padrão (DP) do peso (g) dos neonatos no 15º dia de lactação.

X ± DP	15º Dia de lactação						
	GI (n = 44)	GII (n = 42)	GIII (n = 40)	GIV (n = 41)	GV (n = 39)	GVI (n = 40)	GVII (n = 39)
	29,5 ± 3,4	28,7 ± 1,4	29,1 ± 2,2	28,4 ± 1,9	24,6 ± 2,3	24,9 ± 1,5	25,0 ± 0,8

Análise de Variância ( $p \leq 0,01$ ).

Testes de Comparações Múltiplas (Teste de Tukey-Kramer).

GI, GII, GIII, GIV > GV, GVI e GVII

Com relação ao peso pós-parto, no 1º dia (Tabela 1), no 7º dia (Tabela 2) e no 15º dia pós-parto (Tabela 3) notamos haver diferenças significativas entre os grupos, revelando toxicidade na prole.

De acordo com a análise estatística, para os pesos dos recém-natos nos vários períodos de estudo (Tabelas 1, 2 e 3), apresentaram diferenças significativas, em relação ao controle. Essas diferenças foram mais evidentes no início da lactação e se mostraram mais atenuadas no 15º dia, onde os grupos GI, GII, GIII e GIV apresentaram maiores médias que os grupos GV, GVI e GVII.

Deve ser mencionado que não foi visto sinais clínicos de toxicidade nas doses por nós utilizadas, até 10 mg/kg, diferindo dos resultados encontrados por NESSEL *et al.* (1983), onde relatam que dosagens de ivermectina relativamente altas (10 mg/kg), provocam sinais de neurotoxicidade em várias espécies de animais de laboratório. No entanto, encontramos alterações com relação ao peso corporal, que segundo MASON; KANG (1994) revelam ser um indicador de toxicidade. Pela análise do peso dos recém-natos, expresso nas diversas tabelas percebemos que logo após o nascimento (Tabela 1) todos os animais cujas mães receberam ivermectina apresentaram menor peso, em relação ao controle. Deve ser notado que com o decorrer do tempo (Tabelas 2 e 3), somente os animais cujas mães receberam as mais altas doses ainda permanecem com baixo peso, talvez devido a maturidade da barreira hemoencefálica. Não deve ser descartado ainda o fato de haver maturidade do fígado fetal, local onde ocorre degradação (detoxificação) de substâncias tóxicas. Essa nossa assertiva esta baseada no fato de alguns trabalhos relatarem a larga eliminação da ivermectina pelo leite materno (AZIZ, 1986; SPINOSA *et al.*, 1999). Estudos relatam que a ivermectina administrada a ratas durante a prenhez mostrou estar 3 vezes mais concentrada no leite materno do que no plasma materno logo pós o parto (RAT MEDICATION GUIDE, 2004).

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que, os tratamentos com ivermectina nos períodos da

gestação e lactação, não revelaram aparecimento de defeitos congênitos, mortalidade, alterações significativas no número da prole, porém mostrou diferenças estatísticas com relação ao peso corporal dos neonatos.

## REFERÊNCIAS

- AMANN, R.P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VAN DEMARK, N.L. (Eds.). *The testis*. New York: Academic, Press, 1970. v.1, p.433-482.
- AZIZ, M.A. Chemotherapeutic approach to control of onchocerciasis. *Review Infectious Disease*, v.8, p.500-504, 1986.
- CAMPBELL, W.C.; BENZ, G.W. Ivermectin a review of efficacy and Safety. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v.7, p.1-16, 1984.
- DI NETTA, J. List of registrations. CAMPBELL, W.C. (Ed.). *Ivermectin and abamectin*. New York: Springer-Verlag, 1989. p.344-366. (Appendix III).
- GUERRA, M.O.; PETERS, V.M.; OLIVEIRA, L.E.G.; SOUZA, E.R. Administração de Levonorgestrel a ratas lactando: desenvolvimento físico das crias. *Biology of Reproduction*, v.19, p.41-54, 2000.
- LANKAS, G.R.; MINSKER, D.H.; ROBERTSON, R.T. Effects of ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v.27, p.523-529, 1989.
- LOBATO, V.; RATH, S.; REYES, F.G.R. Considerações sobre a presença de ivermectina em alimentos de origem animal. *Revista Brasileira de Toxicologia*, v.17, n.1, p.27-38, 2004.
- MANTOVANI, A. The role of multigeneration studies in safety assessment of residues of veterinary drugs and additives. *Istituto Superiore di Sanita*, v.28, n.4, p.429-435, 1992.
- MASON, J.M.; KANG, Y.J. Methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: HAYES, A.W. (Ed). *Principles and methods of toxicology*. 3.ed. New York: Raven Press, 1994. v.28, p.989-1034.
- MEDeiros, J.P.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; SIMÕES, M.J.; EVÊNCIO-NETO, J. Aspectos morfológicos dos ovários de ratas (*Rattus norvegicus albinus*) tratadas com ivermectina. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.73, n.2, p.215-218, 2006. Disponível em: [http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V73\\_2/medeiro.PDF](http://www.biologico.sp.gov.br/ARQUIVOS/V73_2/medeiro.PDF). Acesso em: 10 jul. 2006.
- NESSEL, R.J.; JACOB, T.A.; ROBERTSON, R.T. *Recent developments in the control of animal parasites*. Rahway: Merck, 1983. v.1, p.98-108.

- POUL, J.M. Effects of perinatal ivermectin exposure on behavioral development of rats. *Neurotoxicology and Teratology*, v.10, n.3, p.267-272, 1988.
- RAT MEDICATION GUIDE: Ivermectin. Oral Range-finding Study in Pregnant Rats. California Department of Food and Agriculture Medical Toxicology. Disponível em: <<http://www.cdpr.ca.gov/docs/toxsums/pdfs/2254.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2004.
- SIMÕES, M.J. *Aspectos morfológicos e morfométricos do endométrio de ratas albinas de colônia 2 BAW, nas subfases intermediárias e final do estro e diestro*. 1979. 71f. Dissertação (Mestrado em Histologia) - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1979.
- SPINOSA, H.S.; GÓRNIOK, L.S.; BERNARDI, M.M. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. v.45, p.460-463.
- SURTHERLAND, I.H.; CAMPBELL, W.C. Development, pharmacokinetics and mode of action of ivermectin. *Acta Leidensia*, v.59, n.1, p.161-168, 1990.
- WISE, L.D.; ALLEN, H.L.; HOE, C.M.L.; DAVID, R.V.; GERSON, R.J. Developmental neurotoxicity evaluation of the avermectin pesticide, emamectin benzoate, in Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicology and Teratology*, v.19, n.4, p.315-326, 1997.

Recebido em 10/11/05

Aceito em 6/11/06