

Aspectos toxicológicos da ivermectina: um estudo dos efeitos na morfologia do fígado de ratas prenhes

Toxicological aspects of ivermectin: a study of the effects on the liver morphology of pregnant rats

Aspectos toxicológicos de la ivermectina: Um estudio de los efectos sobre la morfologia del hígado de ratas preñadas

Recebido: 05/01/2021 | Revisado: 06/01/2021 | Aceito: 10/01/2021 | Publicado: 12/01/2021

Juliana Pinto de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9400-8067>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: jupinto2@gmail.com

Rodrigo Reges dos Santos Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0141-5649>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: rodrigoregesufpe@gmail.com

Leandro Paes de Brito

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3440-6431>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: leandropaes02ufpe@gmail.com

Marcos Aurélio Santos da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9836-9444>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: marcosxp17@gmail.com

Daniela Maria Santos Falcão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3097-7077>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: danielamsfalcao@gmail.com

Maria Eduarda da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5369-6051>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: mariaeduardaufpe@gmail.com

Fernanda das Chagas Ângelo Mendes Tenório

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8255-356X>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: fcas14@hotmail.com

Bruno Mendes Tenório

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8959-695X>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: brunoufrpe@hotmail.com

Carina Scanoni Maia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8192-5018>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: carina.scanoni@gmail.com

Luciana Maria Silva de Seixas Maia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5127-7876>
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil
E-mail: luciana.smaia@ufpe.br

Joaquim Evêncio Neto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6026-1390>
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil
E-mail: joaquim.evenciont@ufrpe.br

Resumo

A Ivermectina, princípio farmacológico de um medicamento de uso veterinário possui efeito antiparasitário contra endo e ectoparasitos, é amplamente utilizada na prática veterinária. Esta droga é biotransformada no fígado, resultando em 3 metabólitos, sendo o mais importante o 24-hidroxi-metil-diidroavermectina B1. O fígado é essencial na regulação do metabolismo, na síntese de certas proteínas, servindo como local de armazenagem para certas vitaminas e ferro, degradando certos hormônios e inativando e excretando certos medicamentos e toxinas. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a morfologia dos fígados de ratas prenhes tratadas com ivermectina. Para tanto foram utilizadas 30 ratas albinas, as quais foram divididas em 3 grupos de 10 animais. Os animais foram colocados

para acasalar e após a detecção da prenhez, presença de espermatozoides no esfregaço vaginal realizado na manhã do dia seguinte, sendo assim designado o primeiro dia de gestação, cada animal foi tratado com ivermectina, na dose correspondente a cada grupo durante 18 dias, com administração a cada 3 (três) dias, totalizando 6 administrações. Após esse período o fígado foi coletado, pesado em balança analítica e processado para microscopia de luz. A análise do peso relativo dos fígados das ratas prenhes e não prenhes não revelou diferença significativa entre os grupos experimentais, onde o tratamento com ivermectina nas doses de 4,0 e 8,0 mg/kg não alterou a massa relativa do fígado, nem apresentou alterações na cor, textura, consistência e hemorragias. Com relação ao estudo através da microscopia de luz, não foram observadas alterações histopatológicas.

Palavras-chave: Ivermectina; Fígado; Ratos.

Abstract

Ivermectin, the pharmacological principle of a veterinary drug has an antiparasitic effect against endo and ectoparasites, it is widely used in veterinary practice. This drug is biotransformed in the liver, resulting in 3 metabolites, the most important being 24-hydroxy-methyl-dihydroivermectin B1. The liver is essential in regulating metabolism, in the synthesis of certain proteins, serving as a storage site for certain vitamins and iron, degrading certain hormones and inactivating and excreting certain drugs and toxins. Therefore, this study aimed to evaluate the morphology of the livers of pregnant rats treated with ivermectin. For this purpose, 30 albino rats were used, which were divided into 3 groups of 10 animals. The animals were placed to mate and after the detection of pregnancy, the presence of sperm in the vaginal smear performed on the morning of the following day, being thus designated the first day of pregnancy, each animal was treated with ivermectin, in the dose corresponding to each group for 18 days, with administration every 3 (three) days, totaling 6 administrations. After this period, the liver was collected, weighed on an analytical balance and processed for light microscopy. The analysis of the relative weight of the livers of pregnant and non-pregnant rats did not reveal any significant difference between the experimental groups, where treatment with ivermectin at doses of 4.0 and 8.0 mg / kg did not alter the relative mass of the liver, nor did it show changes in color, texture, consistency and bleeding. Regarding the study through light microscopy, histopathological changes were not observed.

Keywords: Ivermectin; Liver; Rats.

Resumen

La ivermectina, el principio farmacológico de un medicamento veterinario tiene un efecto antiparasitario contra endo y ectoparasitos, es ampliamente utilizado en la práctica veterinaria. Este fármaco se biotransforma en el hígado, dando como resultado 3 metabolitos, siendo el más importante la 24-hidroxi-metil-dihidroivermectina B1. El hígado es fundamental en la regulación del metabolismo, en la síntesis de determinadas proteínas, sirviendo de lugar de almacenamiento de determinadas vitaminas y hierro, degradando determinadas hormonas e inactivando y excretando determinados fármacos y toxinas. Por tanto, este estudio tuvo como objetivo evaluar la morfología de los hígados de ratas preñadas tratadas con ivermectina. Para ello se utilizaron 30 ratas albinas, que se dividieron en 3 grupos de 10 animales. Los animales fueron colocados para aparearse y luego de la detección de gestación, la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal realizado en la mañana del día siguiente, siendo así designado el primer día de gestación, cada animal fue tratado con ivermectina, en la dosis correspondiente a cada grupo durante 18 días, con administración cada 3 (tres) días, totalizando 6 administraciones. Después de este período, se recogió el hígado, se pesó en una balanza analítica y se procesó para microscopía óptica. El análisis del peso relativo de los hígados de ratas gestantes y no gestantes no reveló una diferencia significativa entre los grupos experimentales, donde el tratamiento con ivermectina a dosis de 4.0 y 8.0 mg / kg no alteró la masa relativa del hígado, ni mostró cambios de color, textura, consistencia y sangrado. En cuanto al estudio mediante microscopía óptica, no se observaron cambios histopatológicos.

Palabras clave: Ivermectina; Hígado; Ratas.

1. Introdução

A ivermectina foi descoberta em 1970 e desde então é amplamente utilizada contra endo e ectoparasitas de animais. É uma droga semi-sintética constituída por uma mistura de 80% de 22, 23 diidroivermectina B1a e 20% de 22, 23 diidroivermectina B1b. (Geary, 2005; Omura, 2008; Khoja et al., 2018). É eficaz em doses baixas e pode ser facilmente usada por via oral, tópica e parenteral e, além disso, tem um modo de ação único, ou seja, não há problemas de resistência cruzada com outros compostos existentes (Omura, 2008; Laing, Gillan, & Devaney., 2017). As doses preconizadas, por via subcutânea (SC), são de 0,2 mg/kg para ruminantes e 0,3mg/kg para suínos; para equinos, a dose é de 0,2 mg/kg por via oral (VO); em cães é empregada em associação com outros antiparasitários (Delayte, Otsuka, Larsson, & Castro, 2006).

Após a aplicação, a ivermectina é biotransformada no fígado, no qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para utilização por outros órgãos. Sua posição no sistema circulatório é ideal para captar, transformar e acumular metabólitos e para a neutralização e eliminação de substâncias tóxicas (Junqueira & Carneiro, 2004), além de participar na síntese de proteínas, no armazenamento de vitaminas e ferro, degradação de hormônios e inativação e excreção de toxinas (Robert & Matthew, 1996). Contudo, esse composto é o principal resíduo encontrado nos tecidos hepáticos e adiposos, alcançando um percentual de 60% em bovinos, 48% em ovinos e 71% em roedores (Spinosa, Górnaiak, & Bernardi, 1999).

Além disso, esta droga não é excretada facilmente, permanecendo nos tecidos hepáticos e líquidos corporais em elevadas concentrações por períodos prolongados (Rat Medication Guide, 2004), tornando sua utilização limitada para tratamentos clínicos, uma vez que a ivermectina é classificada como uma substância moderadamente tóxica. A toxicidade da ivermectina está associada principalmente ao elevado número de formulações disponíveis no mercado e ao uso indiscriminado na tentativa de obter maior sucesso terapêutico. A toxicidade ocorre quando a ivermectina atinge órgãos suscetíveis em concentrações suficientemente altas e por tempo suficiente para iniciar a manifestação tóxica (Delgado et al., 2009).

A sua dose letal 50% (DL50) oral em coelhos é de 406 mg/kg, enquanto a DL50 oral em ratos é de 42,8-52,8 mg/kg. A DL50 intraperitoneal em ratos é de 55 mg/kg, enquanto a DL50 dérmica é de 660 mg/kg (Temple, & Smith, 1994). É importante enfatizar que os animais jovens, em geral, são mais susceptíveis aos efeitos tóxicos da ivermectina que os adultos, devido à maior permeabilidade da barreira hematoencefálica (Sanford, Rehmtulla & Josephson, 1988; Gupta, 2007).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar possíveis alterações hepáticas de ratas prenhes quando expostas a diferentes doses de ivermectina.

2. Metodologia

O presente estudo se refere à pesquisa laboratorial de natureza quantitativa (Pereira et al., 2018), em que foi avaliado os efeitos da ivermectina sob o fígado de ratas prenhes.

Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizadas 30 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 (DMFA/UFRPE). 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 três grupos, cada um constituído por 10 animais, distribuídos da seguinte maneira: Grupo I- Ratas controle, tratadas com o veículo da ivermectina; Grupo II- Ratas tratadas com 4,0 mg/kg de ivermectina, Grupo III- Ratas tratadas com 8,0 mg/kg de ivermectina, por via oral; a administração foi feita por gavagem..

Os animais foram tratados com o medicamento (Ivomec® solução oral a 0,08% para ovinos e caprinos). Os animais foram colocados para acasalar e após a detecção da prenhez, presença de espermatozóides no esfregaço vaginal realizado na manhã do dia seguinte, sendo assim designado o primeiro dia de gestação, (Lankas, Minsker, & Robertson, 1989), cada animal foi tratado com ivermectina, na dose correspondente a cada grupo durante 18 dias, com administração a cada 3 (três) dias, totalizando 6 administrações. Após esse período os animais foram pesados e 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 fígados, estes foram pesados e fixados em líquido de Bouin por 24h. Em seguida os animais foram eutanasiados por apofundamento do

plano anestésico. Todos os procedimentos foram aprovados pela comissão de pesquisa, ética e experimentação animal do DMFA-UFRPE. O peso relativo (PR) destes órgãos foi calculado da seguinte forma: $PR = PO/PC \times 100$, onde PO = peso do órgão e PC = peso corporal.

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 µm (micrômetros). 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 sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela hematoxilina-eosina (H-E). A análise morfológica e documentação fotográfica foi feita em fotomicroscópico.

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. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($\alpha \leq 0,05$).

3. Resultados e Discussão

A análise do peso relativo dos fígados das ratas prenhes e não prenhes não revelou diferença significativa entre os grupos experimentais (Tabela 1), onde o tratamento com ivermectina nas doses de 4,0 e 8,0 mg/kg não alterou a massa relativa do fígado, nem apresentou alterações na cor, textura, consistência e hemorragias. Com relação ao estudo através da microscopia de luz, não foram observadas alterações histopatológicas, sendo identificados uma cápsula composta por uma camada de células mesoteliais recobrimo a camada delgada de tecido conjuntivo. O espaço porta contendo ramos da veia porta, ramos da artéria hepática e ramos do ducto biliar e a veia centro-lobular. Os hepatócitos apresentaram-se organizados em fileiras formadas por uma dupla camada de células hepáticas, separadas entre si por capilares sinusóides, estando todos os grupos experimentais com a mesma morfologia hepática preservada.

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

Grupos	GI	GII	GIII
(n=10)			
Média	8,33 ±	8,65 ±	8,75 ±
DP	0,01	0,01	0,01

Análise de Variância ($p > 0,05$). Fonte: Autores.

Embora alguns trabalhos relatem que o fígado é um dos principais órgãos com resíduos de ivermectina pós tratamento, observamos no nosso experimento que não houve alterações significativas, estando assim de acordo com os estudos de Sutherland e Campbell (1990) e Möller, Dallegrave, Coelho, Pereira e Langeloh (2003).

Pesquisadores relatam (Chiu et al., 1986), que metabólitos da ivermectina foram encontrados em fígado de ratos após administração, não alterando a massa relativa hepática nem histopatológica, corroborando assim com os nossos achados.

Segundo Campbell (1993), em ratos a dosagem de 5,0 mg/kg/dia não foi tóxica nas ratas prenhes e nos fetos, enquanto 10 mg/kg/dia foi tóxica nas ratas prenhes e causou fenda palatina nos fetos. A ivermectina causou desenvolvimento

anormal fetal somente com dosagens maternotóxicas. Estudos com camundongos, ratos e coelhos mostraram a baixa incidência de anormalidades ocorridas em embriões, embora doses altas tenham produzido severos sinais de maternotoxicidade, incluindo morte. No nosso estudo não foi evidenciado nenhum sinal clínico de toxicidade, assim como mortalidade.

De acordo com Möller et. al, 2003, a massa relativa de órgãos das ratas tratadas, por via subcutânea, com ivermectina nas doses de 4mg/kg e 12mg/kg, no 6º dia de prenhez não demonstrou diferença significativa entre os grupos, onde os fígados das ratas tratadas não apresentaram alterações histopatológicas, nem hepatomegalia estatisticamente significativas, ainda que os resíduos maiores se concentram nesse órgão e na gordura corporal (Sutherland, & Campbell, 1990). Corroborando assim, com os resultados encontrados na nossa pesquisa.

4. Conclusão

Baseado nos resultados obtidos pode-se sugerir que o tratamento com a ivermectina em ratas prenhes, em diferentes doses (4,0 e 8,0 mg/kg), não mostra ser um fármaco que revela prejuízo na morfologia hepática, sendo assim não consideramos hepatotoxicidade no nosso estudo.

Diante dos fatos apresentados os autores sugerem que sejam realizados novos estudos referentes a essa temática utilizando outras concentrações de ivermectina, visto que a literatura científica apresenta uma escassez de publicações relacionando as alterações morfológicas causadas ao fígado pela ivermectina, embora exista, na última década, um aumento de interesse pelo tópico. Nesse sentido, trata-se ainda de um tema com muito espaço para pesquisas, tanto clínicas quanto acadêmicas, com o intuito de fornecer melhor embasamento teórico aos profissionais da área e, com isso, oferecer melhores evidências.

Referências

- Amann, R.P. & Jonhson, A.D. (1970). *Sperm production rates*. Academic, 1, 433-482.
- Booth, N. H. & Mcdonald, L. E. (1992). *Farmacologia e terapêutica em veterinária* (v 997). Ed. Guanabara.
- Cormack, D. H. (2003). *Fundamentos de Histologia*. (2a ed.).
- Chiu, S. H., Sestokas, E. L. E. N. A., Taub, R., Buhs, R. P., Green, M. A. R. I. L. Y. N., Sestokas, R. U. T. A., & Jacob, T. A. (1986). Metabolic disposition of ivermectin in tissues of cattle, sheep, and rats. *Drug Metabolism and Disposition*, 14(5), 590-600.
- Delayte, E. H., Otsuka, M., Larsson, C. E., & Castro, R. C. C. (2006). Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicose canina generalizada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(1), 31-38.
- Delgado, F. E., Lima, S. W., Bello, A. C., Domingues, L. N., Wanderley, R. P., Leite, P. V., & Leite, R. C. (2009). Cattle helminthiasis: farmers perception in Minas Gerais, Brazil. *Revista brasileira de parasitologia veterinária= Brazilian journal of veterinary parasitology: Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 18(3), 29-33.
- Fausto, N., Campbell, J. S., & Riehle, K. J. (2006). Liver regeneration. *Hepatology* 43: S45–S53.
- Geary, T. G. (2005). Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. *Trends in parasitology*, 21(11), 530-532.
- Gupta, R. C. (2007). Ivermectin and selamectin. In *Veterinary Toxicology* (pp. 508-513). Academic Press.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2004). *Histologia básica*. (10a ed.). Rio de Janeiro.
- Junqueira, L. C., & Carneiro J. (2013). *Histologia Básica*. (12a ed.). Rio de Janeiro.
- Khoja, S., Huynh, N., Warnecke, A. M., Asatryan, L., Jakowec, M. W., & Davies, D. L. (2018). Preclinical evaluation of avermectins as novel therapeutic agents for alcohol use disorders. *Psychopharmacology*, 235(6), 1697-1709.
- Laing, R., Gillan, V., & Devaney, E. (2017). Ivermectin—old drug, new tricks? *Trends in parasitology*, 33(6), 463-472.
- Lankas, G. R., Minsker, D. H., & Robertson, R. T. (1989). Effects of ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats. *Food and chemical toxicology*, 27(8), 523-529.
- Lobato, V., Rath, S., & Reyes, F. G. (2004). Considerações sobre a presença de ivermectina em alimentos de origem animal. *Rev. bras. toxicol*, 27-38.

- Medeiros, J. P., de Moura Estevão, L. R., Baratella-Evêncio, L., dos Santos, J. M., Simões, R. S., de Jesus Simões, M., & Evêncio-Neto, J. (2008). Efeito da ivermectina sobre a ciclicidade, gestação e desenvolvimento neonatal em ratos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 45(6), 472-480.
- Möller, V. M., Dallegre, E., Coelho, R., Pereira, J., & Langeloh, A. (2003). Efeitos da ivermectina (Ivomec® 1% injetável) administrada a ratas Wistar durante o período de organogênese. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40(5), 328-333.
- Omura, S. (2008). Ivermectina: 25 anos e continua forte. *Jornal internacional de agentes antimicrobianos*, 31 (2), 91-98.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UAB/NTE/UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1
- Poul, J. M. (1988). Effects of perinatal ivermectin exposure on behavioral development of rats. *Neurotoxicology and teratology*, 10(3), 267-272.
- Robert, M. B., & Matthew, N. L. Ivermectin. Oral range-finding study in pregnant rats. California Department of Food and Agriculture Medical Toxicology. *Fisiologia*. (3a ed.), Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 988p.
- Sanford, S. E., Rehmtulla, A. J., & Josephson, G. K. (1988). Ivermectin overdose and toxicosis in neonatal pigs. *The Canadian Veterinary Journal*, 29(9), 735.
- Sutherland, I. H., & Campbell, W. C. (1990). Development, pharmacokinetics and mode of action of ivermectin. *Acta Leidensia*, 59(1-2), 161-168.
- Spinosa, H. D. S., Górnica, S. L., & Bernardi, M. M. (1999). Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Rio de Janeiro.
- Temple, W. A. & Smithdiant, M. A. Ivermectin. New Castle, United Kingdom: International Programme on Chemical Safety, 1994. PIM 292.
- Zorn, A. M. *Liver development*. *StemBook*. The Stem Cell Research Community. 2008.