

EFEITOS DA IVERMECTINA SOBRE O FECHAMENTO DO PALATO E SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO GERME DENTAL DE CAMUNDONGOS*

Alessandro Marcelo PELOZO**

Sebastião HETEM***

Maria Tereza Giroto MATHEUS****

- RESUMO: Camundongos fêmeas prenhes foram injetadas no 14º dia de gestação com 200 µg/kg de peso corporal de Ivermectina. Os filhotes foram sacrificados 1, 5 e 10 dias após o nascimento, e as cabeças processadas histologicamente para análise do palato e dos germes dentais. Os resultados não mostraram diferenças no desenvolvimento, pois o palato estava fechado e os germes dentais dos animais tratados eram semelhantes aos dos animais controle. Desse modo, nas condições experimentais deste trabalho, a Ivermectina não se mostrou tóxica às células, permitindo um desenvolvimento das estruturas analisadas com características compatíveis com as encontradas nos animais controle e com as descritas na literatura.
- PALAVRAS-CHAVE: Ivermectina; germe de dente; palato, fechamento.

Introdução

O agente antiparasitário Ivermectina foi introduzido comercialmente no mercado internacional em 1981 e, nos Estados Unidos da América, em 1983. A droga e seus precursores têm sido estudados desde 1975 e continuam sendo pesquisados.³ O conhecimento corrente a respeito das propriedades químicas, bioquímicas e biológicas dos elementos essenciais do composto foi relatado em 1983.⁴

A Ivermectina é um membro da família de compostos produzidos pelo microorganismo do solo *Streptomyces avermitilis* e conhecido, genericamente, como aver-

* Trabalho subvencionado pela Fapesp – Proc. 89/3958-0.

** Estagiário do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

*** Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP. Bolsista do CNPq – Proc. 301761/85-0 (RE).

**** Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

mictinas, termo que traduz ambos os significados do grupo: vermícida e propriedades ectoparasiticidas.³

Acredita-se que a Ivermectina aja sobre nematóides e artrópodes suscetíveis, por meio da potencialização da liberação e combinação do ácido gama-aminobutírico (Gaba) em certas sinapses nervosas;¹⁵ tais fatos ocorrem em receptores pós-sinápticos dos nematóides e artrópodes, e os parasitas ficam paralisados e morrem,⁸ isto é, a Ivermectina mata os parasitas pelo aumento das ligações do Gaba a receptores específicos nas junções neurais; um efeito similar ocorre nas junções neuromusculares.¹⁴

Em cães, uma única dose de 4,7 mg/kg de peso de Ivermectina causa midríase e salivação; com doses excessivas, da ordem de 9,4 mg/kg de peso, ocorrem ataxia e depressão, assim como a morte de alguns animais;^{3,14} sinais semelhantes são observados em cavalos^{1,8} e em cães *collie*, com conseqüências indesejáveis tais como ataxia e depressão.⁶

No gado, 600 µg/kg de Ivermectina administradas por via endovenosa ou subcutânea causaram sinais de depressão, ataxia, dificuldade respiratória, taquicardia, salivação, diarreia, miose e aumento na atividade pseudocolinesterásica; esses sinais foram mais severos quando os animais receberam a droga endovenosamente.²

As reações de miose no gado e de midríase em cães são interpretadas como respostas diferentes das espécies à droga.²

Aliás, é sugerido que alguns dos sinais clínicos, tais como salivação, dificuldade respiratória, diarreia e ataxia observados no gado e em outros animais que receberam Ivermectina, sejam devidos à função colinérgica mediada pelo Gaba.²

Embora a paralisia dos parasitas seja o efeito mais evidente, a suspensão do seu processo reprodutivo tem sido observada, e as bases bioquímicas das diversas propriedades biológicas do composto requerem subsequente elucidação.³

A Ivermectina é essencialmente ativa contra todas as espécies de nematóides gastrointestinais, vistos como de importância patogênica ou econômica no gado.³

Diante do exposto, paralelamente às propriedades antiparasitárias almejadas, a Ivermectina apresenta efeitos indesejáveis, como ser capaz de influir no comportamento e de produzir outros sintomas como os citados acima; por outro lado, devido ao fato de ser administrado sistemicamente, inclusive durante a gestação, podendo assim atuar sobre os órgãos embrionários em desenvolvimento, à semelhança de outras drogas,^{9,10,11,12} constitui a proposição deste trabalho verificar o efeito da Ivermectina administrada durante o período de gestação sobre o fechamento do palato e sobre o desenvolvimento de germes dentais em filhotes de camundongos.

Material e método

Camundongos fêmeas foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho, durante 14 horas. Considerando a verificação do *plug* vaginal como dia zero

do período de gestação, os animais foram separados e passaram a constituir os grupos tratado e controle. Cada animal recebeu uma única injeção intraperitoneal, sendo que no controle foi administrado 0,9 ml de água destilada, enquanto os tratados receberam 200 µg/kg de peso de Ivomec* no 14º dia de vida intra-uterina.

Foram separadas 5 fêmeas, 4 das quais pertenciam ao grupo tratado e uma, ao grupo controle, cujos filhotes foram sacrificados em número de 3 para cada um dos seguintes períodos após o nascimento: 1 dia, 5 dias e 10 dias. Os animais foram alimentados com água e ração granulada à vontade.

Transcorridos os períodos estabelecidos para observação, os filhotes foram sacrificados por inalação excessiva de vapores de éter sulfúrico. Imediatamente após o sacrifício, os fetos foram decapitados, e suas cabeças fixadas em formalina neutra. Após a fixação, estas foram lavadas em água corrente para posterior descalcificação em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50%, em partes iguais.¹³ Após a descalcificação, as cabeças foram incluídas em parafina, de modo a fornecerem cortes frontais com 6 µm de espessura, os quais foram corados pela hematoxilina e eosina para análise em microscopia óptica.

Resultado

Animais tratados

Sacrifício com 1 dia de vida

O palato encontrava-se perfeitamente fusionado, não restando remanescentes epiteliais nas linhas de fusão entre os processos palatinos entre si e destes com o septo nasal (Figura 1).

Os germes dentais dos incisivos mostravam-se perfeitamente constituídos; distinguíam-se as camadas do órgão do esmalte, particularmente os ameloblastos, que eram representados por uma camada de células bem altas e com núcleo basal. Estavam presentes uma camada de esmalte em toda a face vestibular do órgão dental, mais espesso na sua parte média e, conseqüentemente, mais delgado nas porções laterais, e uma camada de dentina seguida de uma de pré-dentina de espessura mais ou menos constante, que envolvia toda a polpa dental.

Periféricamente, a polpa era revestida por odontoblastos em toda sua superfície, e o restante era constituído por células pouco diferenciadas, uniformemente distribuídas, entre as quais encontravam-se vasos sanguíneos. Externamente ao órgão dental,

* Ivomec - Laboratórios MSD.

encontravam-se células e fibras dispostas paralelamente entre si e à sua superfície. Circundando o conjunto existiam trabéculas ósseas mais ou menos densamente dispostas (Figura 2).

Os germes dentais dos molares inferiores apresentavam as características típicas desse grupo de dentes, com os ameloblastos diferenciados como células altas e núcleos basais, e as demais camadas do órgão do esmalte com suas características próprias. Notava-se um início de deposição de esmalte nas pontas das cúspides e a presença de dentina e pré-dentina, particularmente, também nestas áreas. Os odontoblastos revestiam a superfície da polpa, eram altos e diferenciados nas porções altas das cúspides e menos diferenciados em direção cervical. O restante da polpa era composta por células indiferenciadas, uniformemente distribuídas, entre as quais encontravam-se vasos sanguíneos. A conformação da coroa estava definida, e iniciava-se a diferenciação radicular. Envolvendo o órgão dental encontravam-se fibras e células dispostas paralelamente entre si e à superfície do órgão. As trabéculas ósseas encontravam-se a alguma distância do órgão dental, envolvendo-o (Figura 3).

Sacrifício com 5 dias de vida

Os órgãos dentais tanto dos incisivos quanto dos molares mostravam-se evoluídos em relação às observações feitas nos órgãos dentais dos animais sacrificados com um dia de vida. Cada órgão dental apresentava as características próprias do respectivo grupo. Os órgãos dentais mostravam ameloblastos altos recobrendo todo o esmalte, seguidos das demais camadas do órgão do esmalte, pouco definidas nos incisivos e bem estruturadas nos molares. As camadas de esmalte e de dentina eram espessas nos incisivos, mais delgadas nos molares e, ainda, adelgaçavam-se em direção cervical e em direção às áreas carentes de esmalte; a camada de pré-dentina, nítida, era atravessada por canalículos dentinários (Figura 4). A camada de odontoblastos revestia a superfície pulpar, sendo o restante da polpa constituído de células indiferenciadas com vasos sanguíneos distribuídos em seu interior (Figuras 5 e 6). O conjunto era circundado por células e fibras paralelas à superfície do órgão, e mais externamente apareciam trabéculas ósseas.

Sacrifício com 10 dias de vida

Os órgãos dentais tanto dos incisivos quanto dos molares apresentavam-se mais desenvolvidos que os observados aos cinco dias de vida. Os ameloblastos eram reduzidos em altura, preservavam sua característica de núcleo basal, e as demais camadas de epitélio do órgão do esmalte eram pouco definidas nos incisivos e ainda presentes nos molares.

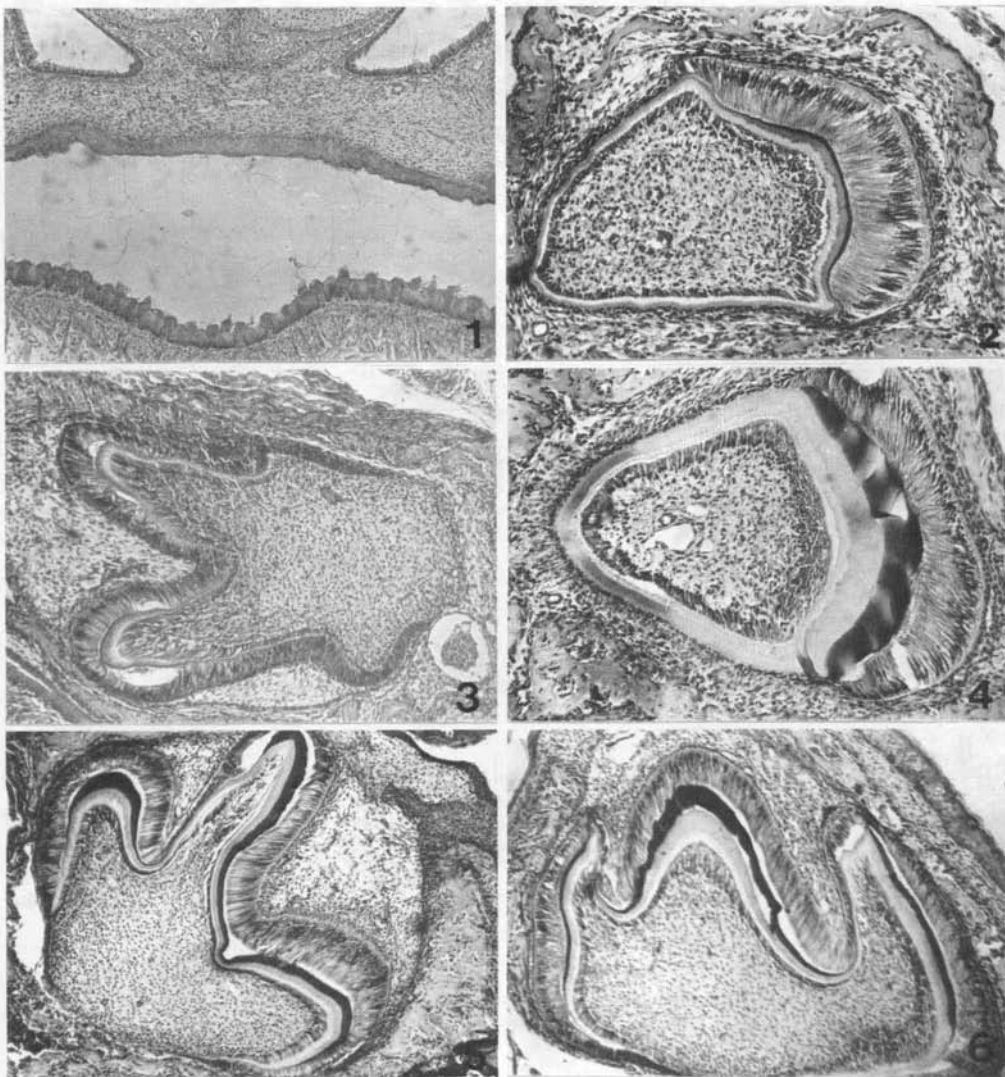


FIGURA 1 – Animal injetado. Aspecto do palato 1 dia após o nascimento. H.E. 100X.

FIGURA 2 – Animal injetado. Incisivo inferior – aspecto 1 dia após o nascimento. H.E. 200X.

FIGURA 3 – Animal injetado. Molar inferior – aspecto 1 dia após o nascimento H.E. 125X.

FIGURA 4 – Animal injetado. Incisivo inferior – aspecto 5 dias após o nascimento. H.E. 167X.

FIGURA 5 – Animal injetado. Molar inferior – aspecto 5 dias após o nascimento H.E. 100X.

FIGURA 6 – Animal injetado. Molar superior – aspecto 5 dias após o nascimento H.E. 105X.

As camadas de esmalte e dentina estavam espessas, e a camada de pré-dentina pouco evidente. A polpa apresentava a camada característica de odontoblastos na superfície, e o restante era constituído por células uniformemente distribuídas. Nos incisivos, ao redor da parte coberta por cimento, notava-se uma distribuição perpen-

dicular de fibras e células orientadas da superfície dental para a superfície óssea (Figura 7). As trabéculas ósseas estavam situadas mais afastadas da superfície dental do que nos casos anteriores. Nos molares havia um maior número de trabéculas ósseas, porém não havia uma orientação muito acentuada das fibras e células situadas entre elas e a superfície dental (Figuras 8 e 9).

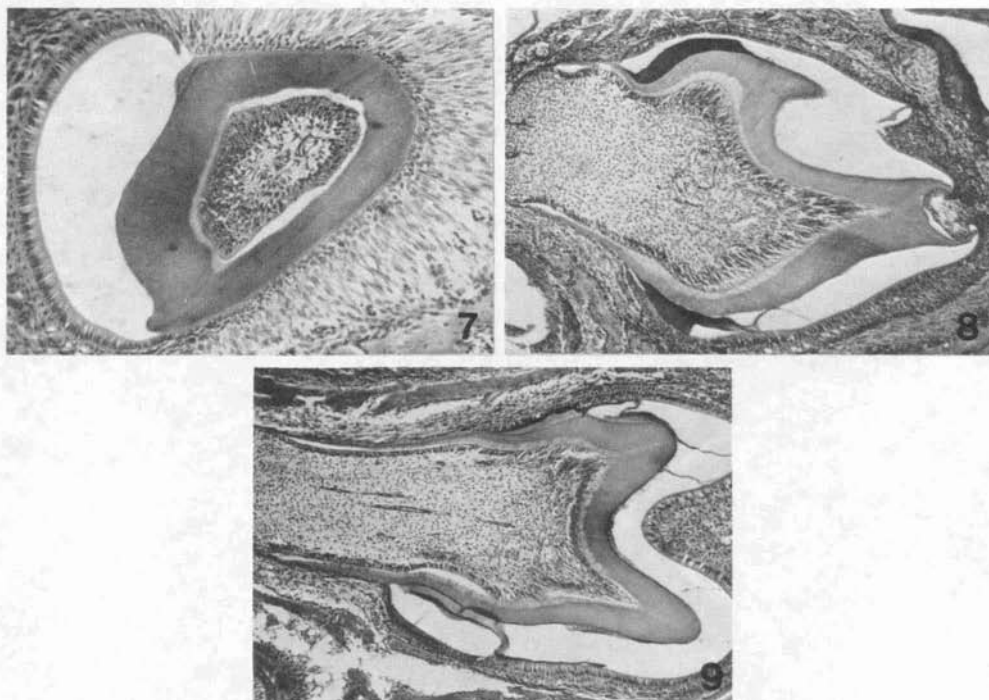


FIGURA 7 – Animal injetado. Incisivo inferior – aspecto 10 dias após o nascimento. H.E.200X.

FIGURA 8 – Animal injetado. Molar superior – aspecto 10 dias após o nascimento H.E.100X.

FIGURA 9 – Animal injetado. Molar inferior – aspecto 10 dias após o nascimento H.E.95X.

Animais controle

Os animais controle apresentaram características que não diferiram, quer com relação ao grupo dental examinado quer com relação às diferentes idades analisadas, das encontradas nos germes dentais dos animais tratados.

Discussão

Na tentativa de verificar os efeitos tóxicos da Ivermectina sobre o desenvolvimento de estruturas, durante o período embrionário, foi utilizada a dosagem recomendada para utilização como agente antiparasitário no gado e em eqüinos.³

Como a Ivermectina é uma substância de amplo uso em medicina veterinária, e a sua administração pode ser feita em animais em gestação, é plenamente justificável que se procure verificar os seus efeitos sobre algumas estruturas fetais e, por conseqüência, determinar a possível ocorrência de efeitos danosos aos conceitos. Isso seria, no gado, tão ou mais indesejável que os parasitas, em razão dos quais a droga é administrada, pelos efeitos patogênicos ou econômicos que poderia causar.³

Embora não houvesse a preocupação de observar os sintomas apresentados pelos animais ou o seu comportamento, o que não constitui o escopo deste trabalho, nada ocorreu que pudesse chamar a atenção após a administração da droga, razão pela qual não é possível confirmar ou infirmar os sintomas apresentados por outros animais submetidos à administração da Ivermectina.^{2,3,4,5}

Na realidade, quanto aos aspectos analisados, quando comparados com os dados encontrados nos animais controle ou na literatura,^{5,7} a Ivermectina não produziu nenhuma alteração, quer com relação ao fechamento do palato, quer com relação ao desenvolvimento dos germes dentais.

Sob esses pontos de vista, a Ivermectina não pode ser considerada tóxica às células, às estruturas ou aos animais em desenvolvimento, agindo, portanto, de maneira diferente de outras drogas que possuem efeitos citotóxicos.^{11,12}

Da mesma forma, nenhum dos sinais clínicos, tais como depressão, ataxia, profusa salivação, taquicardia, dificuldade respiratória, miose e diarreia, observados em bovinos que receberam a Ivermectina na concentração de 600 µg/kg de peso, por via endovenosa ou por via subcutânea,² foram por nós observados, muito embora a verificação de alguns desses sinais clínicos tenha sido feita em cavalos¹ e em cães.¹⁴ A ausência desses sintomas em nossos camundongos deve-se, provavelmente, à diferença de concentração na dosagem utilizada, pois idiosincrasia animal, superdosagem da droga ou sua administração imprópria comumente levam os animais a reagirem adversamente.² Deve-se ressaltar que quase todas as reações observadas em cavalos foram de pequena intensidade, muito embora uma morte tenha ocorrido.⁸ Por outro lado, embora reações severas tenham sido relatadas em cães *collie* que receberam doses altas de Ivermectina, não está excluída a possibilidade de que algum cão, de outras linhagens, isoladamente, possa ser afetado por doses relativamente baixas de Ivermectina.¹⁴

Interessante a sugestão de que o efeito depressivo causado em cavalos possa ser resultado da passagem da Ivermectina pela barreira hemato-encefálica em quantidade suficiente para causar potencialização do efeito do Gaba,⁸ assim como a informação de que, mesmo tendo entrado em coma, estado em que permaneceu por 4 semanas após a administração de Ivermectina, um cão foi completamente recuperado.⁶

Conclusão

Com base em nossos resultados, a Ivermectina administrada em camundongos fêmeas no 14º dia do período de gestação, na dosagem recomendada para utilização como antiparasitário no gado, não produz efeitos deletérios sobre os fetos, não prejudicando o fechamento do palato ou o desenvolvimento dos germes dentais, uma vez que tais estruturas apresentaram aspectos semelhantes aos dos animais controle.

Agradecimentos

Ao senhor Elton Orlando de Queiroz, pela gentil cessão do Ivomec^R utilizado neste trabalho. Aos funcionários da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP: Sandra A. dos Santos, Marilde N. M. Bento, Ilda A. Teixeira, pelo auxílio na parte técnica, Araci A. dos Santos, pelo auxílio fotográfico, e Lúcia S. Esgalha, pelo trabalho datilográfico.

PELOZO, A. M., HETEM, S., MATHEUS, M. T. G. Effects of ivermectin on palate closure and tooth germ development. *Rev. Odontol. UNESP*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 203-211, 1994.

- *ABSTRACT: Female mice at the 14th day of the gestational period were inject with a single dose of 200 µg/kg body weight of ivermectin. The offspring were sacrificed 1, 5 and 10 days after birth. Their heads were submitted to a histological procedure for analysis of palate closure and tooth germs development. The results did not show differences of the development, that is, the palate was closed and the tooth germs of both treated and control groups presented very similar aspects. Thus, under the experimental conditions used here, the ivermectin did not show cell toxicity once that it was found a development of the analysed structures compatible with those found in the control group and with those described in the literature.*
- *KEYWORDS: Ivermectin; palate; tooth germ; development.*

Referências bibliográficas

1. ANDERSON, R. R. The use of ivermectin in horses: research and clinical observations. *Compend. Contin. Educat. Pract. Vet.*, v. 6, p. 516-20, 1984.
2. BASUDDE, C. D. K. Clinical signs and biochemical changes in calves caused by injection of ivermectin. *Vet. Q.*, v. 11, p. 29-32, 1989.

3. CAMPBELL, W. C., BENZ, G. W. Ivermectin: a review of efficacy and safety. *I. Vet. Pharmacol. Ther.*, v. 7, p. 1-10, 1984.
4. CAMPBELL, W. C. et al. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science*, v. 221, p. 823-8, 1983.
5. COHN, S. A. Development of the molar teeth in the albino mouse. *Am. J. Anat.*, v. 101, p. 295-319, 1957.
6. EASBY, S. M. Ivermectin in the dog. *Vet. Rec.*, v. 15, p. 45, 1984.
7. HAY, M. F. The development *in vivo* and *in vitro* of the lower incisors and molars of the mouse. *Arch. Oral Biol.*, v. 3, p. 86-109, 1961.
8. KARNS, P. A., LUTHER, D. G. A survey of adverse effects associated with ivermectin use in Louisiana horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 185, p. 782-3, 1984.
9. MATHEUS, M. T. G., HETEM, S. Efeitos da ciclofosfamida sobre o desenvolvimento de germes dentais de molares transplantados para a câmara anterior do olho de camundongos. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 19, p. 51-61, 1990.
10. _____. Ação do fosfato sódico de dexametasona no desenvolvimento de germe dental transplantado para a câmara anterior do olho de camundongos. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 22(2), p. 203-11, 1993.
11. MATHEUS, M. T. G. et al. Efeito da ciclofosfamida sobre o desenvolvimento de germe dental do incisivo do camundongo. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 19, p. 41-9, 1990.
12. _____. Efeito transplacentário da ciclofosfamida sobre o desenvolvimento do germe dental do molar de camundongos. *Rev. Odontol. UNESP.*, v. 23, n. 1, p. 9-20, 1994.
13. MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl-alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. *J. Dent. Res.*, v. 24, p. 143-53, 1945.
14. PULLIAM, J. D. et al. Investigating ivermectin toxicity in collies. *Vet. Med.*, v. 80, p. 33-40, 1985.
15. WANG, C. C., PONG, S. S. Actions of ivermectin B on Gaba nerves. *Prog. Clin. Biol. Res.*, v. 97, p. 373-95, 1982.

Recebido em 3.5.1993.