

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE PSICOLOGIA

PATRICIA DE SÁ E BENEVIDES RODRIGUES ALVES

**INTERFERÊNCIA DA MOXIDECTINA NA MOTIVAÇÃO SEXUAL  
E EREÇÃO PENIANA DE RATOS: ENVOLVIMENTO DE  
NEUROTRANSMISSORES HIPOTALÂMICOS E ESTRIATAIS.**

São Paulo

2007

PATRICIA DE SÁ E BENEVIDES RODRIGUES ALVES

**Interferência da moxidectina na motivação sexual e ereção peniana de ratos:  
envolvimento de neurotransmissores hipotalâmicos e estriatais.**

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título de  
Doutor

Área de Concentração: Neurociências e Comportamento  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Helenice de Souza Spinosa

São Paulo  
2007

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação  
Serviço de Biblioteca e Documentação  
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Rodrigues Alves, Patricia de Sá e Benevides.

Interferência da moxidectina na motivação sexual e ereção peniana de ratos: envolvimento de neurotransmissores hipotalâmicos e estriatais / Patricia de Sá e Benevides Rodrigues Alves; orientadora Helenice de Souza Spinosa. -- São Paulo, 2007.

72 p.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

**1. Moxidectina 2. Gaba 3. Motivação sexual (animal) 4. Ereção peniana 5. Neurotransmissores 6. Ratos I. Título.**

**RM412**

## FICHA DE APROVAÇÃO

Patricia de Sá e Benevides Rodrigues Alves  
Interferência da moxidectina na motivação sexual e ereção peniana de ratos:  
envolvimento de neurotransmissores hipotalâmicos e estriatais.

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título de  
Doutor.  
Área de Concentração: Neurociências e Comportamento

Aprovada em: \_\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

*“What you do make a difference and you have to decide  
What kind of difference you want to make”*

*JANE GOODALL*

*Aos meus pais, Adélia e Marcello,  
com amor, admiração e gratidão  
por seu incansável apoio ao longo da minha vida.*

*Homenagem*

*Ao meu tio Sérgio José de Sá e Benevides,  
sempre presente em minha lembrança*

## AGRADECIMENTOS

À minha filha Dora, pela ajuda e incentivo, desculpe pelos momentos que deixamos de compartilhar.

Ao meu marido, José Eduardo, pelo apoio e por sua compreensão da importância deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Helenice de Souza Spinosa, pela atenção e apoio durante o processo de orientação, obrigada por esta oportunidade.

À Prof<sup>a</sup>. Maria Martha Bernardi, por compartilhar seu precioso conhecimento contribuindo muito para meu crescimento científico e intelectual, obrigada por manter sua porta sempre aberta.

Aos Professores Dra. Emma Otta, Dra. Maria Helena Leite Hunziker, Dra. Maria Teresa Araujo Silva, Dr. André F. Kohn, Dr. Luiz Eduardo Ribeiro do Valle, Dr. Luiz Roberto G. de Britto, e Dr. Luiz Silveira Menna Barreto, que tive o prazer de conhecer, reencontrar e conviver durante a realização do Doutorado, muito obrigada pela amizade, incentivo e colaboração.

Ao Dr. Ivo Lebrun, meu muito obrigado pela valiosa colaboração na dosagem dos aminoácidos.

Ao Prof. Jorge Camilo Flório, obrigada pela ajuda inestimável na dosagem das aminas e para “decifrar” os resultados da neuroquímica.

Ao Prof. Luciano Freitas Felício, por sua amizade e ótimas sugestões em todas as etapas, certa de seu apoio lamento sua ausência por ocasião da defesa desta tese.

À Dra. Mônica Andersen, pela atenção e carinho ao aceitar o convite para participar da banca e pelas ótimas sugestões apresentadas por ocasião do exame de qualificação.

Aos Professores Dra. Célia Paulino, Dra. Gladys Nasello, Dr. Newton Sabino Canteras, pela atenção e carinho ao aceitar participar da banca da defesa desta tese.

À Beth (Elisabeth Teodorov) amiga muito querida, obrigada pela inestimável ajuda para a realização da neuroquímica.

À Soraya, por sua amizade e pelas dicas na cirurgia das ratas.

À Aline, obrigada pela ajuda nos experimentos, sinto estarmos tão longe



À Amanda, Bel, Márcia, e todo pessoal do laboratório do Prof. Luciano, pelo carinho e amizade.

À Dra. Cláudia, Idalina, Rosires, Herculano, Luiz, Nelsinho, do Biotério do VPT – FMVZ – USP, pelo carinho, amizade e principalmente pelo cuidado com os ratos.

À Magali, Priscila e Ricardo, do Laboratório do VPT – FMVZ – USP, pela amizade e colaboração nos experimentos.

À Cássia Medea, pelos sensacionais desenhos.

Aos colegas dos cursos de pós-graduação em Neurociências e Comportamento, em Psicologia Experimental, e em Patologia Experimental e Comparada, pelo privilégio de sua amizade e convívio.

Às secretárias do NeC e PSE – IP e VPT – FMVZ, Cláudia, Cristina, Idalina, Marguiti, Silvia, e Sônia, pela amizade e colaboração.

À Ana Laura, Moisés e Gustavo, do IP – USP, pela atenciosa ajuda, principalmente por ocasião da qualificação.

À Clarisse e equipe da Secretaria de Pós-graduação do IP – USP, pela atenção e apoio ao longo destes quatro anos de Doutorado.

Aos Funcionários das Bibliotecas do IP, FMVZ, e ICB – USP, pelo atendimento carinhoso e auxílio na compilação das referências.

Ao Instituto de Psicologia – USP, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, por colocar a disposição o biotério e o laboratório para a realização dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Aos meus irmãos Manoel, Flávia, Renata e Marcello, cunhados e sobrinhos, pelo incentivo e apoio.

À minha prima Ana Lúcia Ferreira, pelo auxílio com o texto em inglês.

E, a todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste Doutorado, o meu muito obrigado.

“A amizade consiste em esquecer o que a gente dá e lembrar o que a gente recebe”

Alexandre Dumas.

Os experimentos desta tese foram realizados  
no Departamento de Patologia  
da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
da Universidade de São Paulo

## RESUMO

RODRIGUES-ALVES, P.S.B. **Interferência da moxidectina na motivação sexual e ereção peniana de ratos: envolvimento de neurotransmissores hipotalâmicos e estriatais.** 2007. 72 f. Tese (Doutorado em Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

A moxidectina (MOX) é um antiparasitário utilizado na clínica veterinária. Em mamíferos seu mecanismo de ação envolve o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), um neurotransmissor que tem papel relevante na regulação dos comportamentos sexual e motor. Dados anteriores por nós obtidos mostraram que a MOX prejudicou o comportamento sexual e a coordenação motora de ratos machos avaliados na trave elevada. Assim, dando continuidade a esse estudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da administração da dose terapêutica de MOX (0,2 mg/kg) na motivação sexual e ereção peniana de ratos machos, bem como estudar seu envolvimento em diferentes sistemas de neurotransmissão central. Em todos os experimentos os ratos do grupo experimental receberam a MOX por via subcutânea (SC); e os ratos do grupo controle receberam 1 ml/kg de óleo de amêndoas pela mesma via, e foram avaliados após 72 h. A motivação sexual foi avaliada em um aparelho constituído de uma arena e dois compartimentos separados desta por tela de arame; num compartimento foi colocado um rato macho experiente e no outro uma fêmea sexualmente receptiva. Neste aparelho foi medido o tempo que o rato permaneceu nas proximidades de cada compartimento. Os resultados obtidos neste experimento não mostraram diferenças significantes entre os grupos. A ereção peniana foi induzida pela administração SC de 80  $\mu$ g/kg de apomorfina, sendo avaliadas a latência e a frequência de ereção. Os resultados mostraram aumento da latência e redução da frequência de ereção peniana dos animais tratados com MOX, enquanto que a administração dos antagonistas GABAérgicos (biculina e faclofen) não alterou estes parâmetros. Por outro lado, observou-se que a biculina (antagonista GABA<sub>A</sub>) reverteu os efeitos da MOX na ereção peniana, enquanto o faclofen aumentou a frequência de ereção peniana em ratos tratados com a MOX. Quanto aos níveis hipotalâmicos e estriatais de neurotransmissores e metabólitos, observou-se que a MOX reduziu os níveis estriatais de dopamina e de seu metabólito ácido homovanílico (HVA) e também os níveis hipotalâmicos de GABA. Estes dados sugerem que a MOX embora não interfira na motivação sexual, prejudica o desempenho sexual avaliado pela ereção peniana. Esse efeito da MOX pode ser atribuído a sua ação em receptores GABA<sub>A</sub>, os quais modulam receptores tipo B, aumentando a liberação de GABA, e 72 h depois, conseqüente redução dos níveis deste neurotransmissor no hipotálamo (uma das áreas centrais envolvidas com o comportamento sexual) e também dos níveis de dopamina e seu metabólito HVA no estriado, área do sistema nervoso central relacionada com a função motora e na qual neurônios GABAérgicos modulam a atividade de neurônios dopaminérgicos.

Palavras-chave: moxidectina, GABA, receptores GABAérgicos, motivação sexual, ereção peniana, neurotransmissores, hipotálamo, estriado, ratos.

## ABSTRACT

Rodrigues-Alves, P.S.B. **Moxidectin interference on sexual motivation and penile erection: involvement of hypothalamic and striatal neurotransmitters.** 2007. 72 f. Thesis (Doctoral) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

The moxidectina (MOX) is an antiparasitic drug used in veterinary clinic. In mammals its mechanism of action involves GABA, neurotransmitter that has an important role in the regulation of the sexual and motor behaviors. Previous data showed that MOX impair male rat's sexual behavior and motor coordination observed at wooden dowel. The objective of the present work was to evaluate the effects of therapeutic dose of MOX (0.2 mg/kg) in sexual motivation and penile erection of male rats, as well as to study its involvement in different central systems of neurotransmission. In all experiments the rats of experimental groups received MOX subcutaneous (SC), and the rats of control groups received 1.0 mL/kg of almonds oil (SC), and were observed after 72h. Sexual motivation test was performed in an arena with two cages, separate from the arena with a wall of wire screen; in one cage was put an intact male rat and in the other one, a sexually receptive female. In this test was measured the time that the rats stayed near of each cage. The data obtained in this experiment didn't show any significant differences among the groups. The penile erection (PE) was induced by 80 µg/kg of Apomorphine (SC), being evaluated the latency to and frequency of PE. The results showed increased latency and reduction of the frequency of PE of animals treated with MOX, while the GABAergic antagonists' administration (Biculline and Phaclofen) didn't change these parameters. On the other hand, it was observed that the Biculline (GABA<sub>A</sub> antagonist) reversed the effects of MOX in PE, while the Phaclofen increased the frequency of PE in rats treated with MOX. About Hypothalamic and Striatal neurotransmitters levels and their metabolites, was observed that MOX reduced Dopamine (DA) and its metabolite homovanillic acid (HVA) striatal levels and hypothalamic GABA levels. These data suggest that MOX although doesn't interfere in sexual motivation, impair sexual performance evaluated by penile erection. This effect of MOX can be attributed to its action in GABA<sub>A</sub> receptors, which modulate type B receptors, increasing GABA release, and consequent reduction of its levels in the Hypothalamus (one of the central areas involved with sexual behavior) and also, reduction of the DA and its metabolite HVA striatal levels. Striatum is a central nervous system area related with motor function in which GABAergic neurons modulate the activity of dopaminergic neurons.

Keywords: Moxidectin, GABA, GABAergic receptors, Sexual Motivation, Penile Erection, Neurotransmitters, Hypothalamus, Striatum, rat.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

- Figura 1 - Ilustração esquemática da arena para avaliação da motivação sexual 26
- Figura 2 - Ilustração esquemática da caixa para observação da ereção peniana 27
- Figura 3 - Ilustração de um rato em ereção peniana 29

## LISTA DE FIGURAS

Figura 4 -	Efeitos da administração de 0,2 mg/kg de moxidectina em parâmetros de motivação sexual de ratos observados 72 h após o tratamento	37
Figura 5 -	Parâmetros de ereção peniana induzida por apomorfina em ratos observados 72 horas após o tratamento com moxidectina	40
Figura 6 -	Efeitos de antagonistas GABAérgicos em parâmetros de ereção peniana induzida por apomorfina, em ratos observados 72 horas após o tratamento com moxidectina	44
Figura 7 -	Efeitos da moxidectina nos níveis de dopamina, serotonina, noradrenalina, no Hipotálamo e no Estriado, 72h após o tratamento com moxidectina	47
Figura 8 -	Efeitos da moxidectina nos níveis de ácido $\gamma$ -aminobutírico, glutamato e glicina no hipotálamo e no estriado, 72 h após o tratamento com moxidectina	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escores atribuídos à latência para primeira ereção peniana observadas em minutos, em ratos tratados com apomorfina	30
Tabela 2 - Efeitos da administração de moxidectina em parâmetros de motivação sexual de ratos observados 72 h após o tratamento	36
Tabela 3 - Parâmetros de ereção peniana induzida por apomorfina em ratos observados 72 horas após o tratamento com moxidectina	39
Tabela 4 - Efeitos de antagonistas GABAérgicos em parâmetros de ereção peniana induzida por apomorfina, em ratos observados 72 horas após o tratamento com moxidectina	43
Tabela 5 - Efeitos da moxidectina nos níveis de dopamina, serotonina, noradrenalina, GABA, glutamato e glicina no hipotálamo e no estriado, 72h após o tratamento com moxidectina	46

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
3.1 Animais .....	20
3.2 Drogas e outros .....	20
3.3 Procedimento .....	23
3.3.1 Avaliação da Motivação Sexual .....	23
3.3.2 Avaliação do Desempenho Sexual .....	27
3.3.3 Avaliações Neuroquímicas .....	31
3.3 Análises Estatísticas .....	34
<b>4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
4.1 Experimento 1 Efeitos da moxidectina na motivação sexual de ratos .....	35
4.2 Experimento 2 Efeitos da moxidectina no desempenho sexual de ratos .....	38
4.3 Experimento 3 Efeitos de antagonistas GABAérgicos no desempenho sexual de ratos tratados com moxidectina .....	41
4.4 Experimento 4 Efeitos da moxidectina nos níveis centrais de neurotransmissores ...	45
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>61</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O comportamento pode ser entendido, de uma maneira simples, como a relação entre a fisiologia interna do animal e o ambiente externo; variações específicas na função fisiológica podem produzir comportamentos específicos, definidos e previsíveis (WEBER, 1997). Alterações na natureza físico-química das dicas ambientais ou nas respostas biológicas internas têm o potencial de induzir mudanças no comportamento, as quais podem sutilmente alterar a habilidade da população sobreviver (WEBER, 1997).

Numerosos pesquisadores, utilizando uma gama enorme de animais invertebrados e vertebrados, inclusive o homem, desenvolveram um importante conhecimento das alterações comportamentais devidas à exposição a doses subletais de contaminantes no meio ambiente. Estes comportamentos incluem movimentos reflexos e avaliações neurocomportamentais, interações sociais, padrões de atividade e alimentação, e aprendizagem. Entretanto, estes trabalhos têm sido realizados sem investigação dos mecanismos fisiológicos que produzem as mudanças observadas (WEBER, 1997).

No outro lado do espectro biológico, fisiologistas, bioquímicos e biólogos moleculares têm apresentado uma riqueza de importantes dados sobre os efeitos de agentes tóxicos nos organismos aquáticos e terrestres, porém sob uma perspectiva inteiramente diferente, isto é, a relação entre os agentes tóxicos e os processos metabólicos, os mecanismos de detoxificação e a atuação como desreguladores neurofisiológicos e endócrinos.

Cada processo pode, através de uma série de vias intermediárias, afetar o comportamento animal, porém não provêm correlações entre alterações comportamentais e mudanças induzidas pelo agente tóxico (WEBER, 1997).

Estas duas abordagens da toxicologia não são somente úteis, mas cada uma pode contribuir e reforçar a outra. Experimentos que examinam o efeito de substâncias

químicas em um simples comportamento de arco reflexo oferecem uma oportunidade única para decifrar o mecanismo básico da toxicologia comportamental, pois um comportamento padrão específico controlado por vias neurais específicas, permite traçar conexões claras entre a exposição ao agente tóxico e a indução de mudanças nos padrões neurocomportamentais (WEBER, 1997).

Neste contexto, nos dias de hoje, cresce a importância da toxicologia comportamental. Esta pode ser definida como o estudo das anormalidades de comportamento induzidas por agentes exógenos como as drogas, as substâncias químicas no ambiente em geral e no lugar de trabalho. Algumas substâncias prejudicam o sistema nervoso central (SNC) de forma permanente, alterando as sensações, o humor, a função intelectual, ou a coordenação motora, mas mesmo alterações de comportamento passageiras são consideradas tóxicas em algumas situações (HENDERSON; HENDERSON, 2003; 2005).

Comparando sujeitos expostos a agentes exógenos e sujeitos controle, os toxicologistas comportamentais procuram identificar os agentes capazes de alterar o comportamento e determinar o nível de exposição no qual os efeitos indesejáveis ocorrem.

Quando o agente a ser estudado é de uso comum, e não há evidência de risco para saúde, podem-se usar seres humanos no experimento, porém é mais freqüente, por motivos de segurança na pesquisa em toxicologia, a utilização de animais de laboratório (HENDERSON; HENDERSON, 2003; 2005).

Se a toxicidade for considerada somente em termos do risco direto para sobrevivência, a toxicidade comportamental pode ter uma importância menor. Entretanto, sobrevivência não o único critério de uma boa saúde; mesmo um pequeno desvio no comportamento é potencialmente perigoso (HENDERSON; HENDERSON, 2003; 2005).

Os praguicidas empregados na agricultura e em medicina veterinária fazem parte do grupo dos agentes neurotóxicos que levam a alterações comportamentais, sendo os

primeiros grupos estudados os organoclorados, os organofosforados e os carbamatos. Na década de 1970 foi descoberta uma nova classe de praguicidas, as lactonas macrocíclicas, as quais têm uma ação mais seletiva sobre o parasita, com pouco efeito sobre as células do hospedeiro. Fazem parte do grupo das lactonas macrocíclicas, as milbemicinas, as avermectinas e as espinosinas (SATOR; SANTARÉM, 2006).

O grupo farmacológico das milbemicinas e avermectinas são obtidos partir do processo de fermentação de fungos do solo, actinomicetos, do gênero *Streptomyces* (BURG et al., 1979; TAKIGUCHI, ET al., 1980; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995; AYRES; ALMEIDA, 2002).

A moxidectina (MOX), em particular, é uma milbemicina utilizada em medicina veterinária no combate aos endo- e ecto-parasitas, isto é, infestações causadas por nematódeos e artrópodes que acometem diversas espécies animais como caninos, eqüinos, ovinos, bovinos, ruminantes silvestres, entre outros (COURTNEY; ROBERTSON, 1995; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995; SATOR; SANTARÉM, 2006).

Estudos farmacocinéticos mostraram que o pico de concentração plasmática ( $C_{max}$ ) da MOX é atingido após 8 h da administração subcutânea (SC) de 0,2 mg/kg (dose terapêutica) em bovinos, e a concentração desta droga na gordura após 28 dias do tratamento é 90 vezes maior do que a detectada no plasma (LANUSSE et al., 1997). Uma grande proporção de MOX acumula-se no fígado e na gordura (MOLENTO et al., 2004); este fenômeno explica o longo tempo de permanência desta droga no plasma, e o pico de concentração precoce seguido por um rápido declínio (fase de distribuição) no perfil da concentração plasmática entre o  $C_{max}$  e 10 dias pós tratamento (LANUSSE et al., 1997). Quando administrada por via oral (VO) a ovinos e ratos, este pico é de 10 horas (FAO/WHO, 1995).

A MOX mostra moderada toxicidade quando administrada via oral (VO) em ratos e camundongos, e a dose letal 50% (DL50) é de 50 a 100 mg/kg (FAO/WHO, 1995). Quando a MOX é administrada em altas doses em animais, os efeitos adversos observados são caracterizados por sinais de neurotoxicidade como depressão, ataxia, tremores, ansiedade, dificuldade visual, coma e morte (KHAN; KUSTER; HANSEN, 2002).

Em nematódeos e artrópodes, o efeito endectocida (isto é, combate de endo- e ecto-parasitas) das milbemicinas e das avermectinas resultam da atuação em canais de cloro controlados por GLU, levando a hiperpolarização por aumento do influxo de íons cloro (Cl<sup>-</sup>) para o interior da célula nervosa. Esta ação leva à paralisia dos nematódeos e artrópodes. Em mamíferos não é encontrado este tipo de canal de cloro controlado por GLU (ARENA, 1994; CLELAND, 1996; CULLY et al., 1996; NJUE et al., 2004; RODRIGUES-ALVES et al., 2007).

Estes endectocidas também se ligam com alta afinidade aos canais de cloro controlados por ácido gama-aminobutírico (GABA) (DUCE, SCOTT, 1985; DAWSON et al., 2000; FENG et al., 2002; LIFSCHITZ et al., 2002; MOLENTO et al., 2004; NJUE et al., 2004). Nos insetos e artrópodes estas drogas interferem na transmissão dos impulsos nervosos entre células nervosas e musculares, pois é nesta junção neuromuscular que estão localizados os receptores GABAérgicos. Em vertebrados estas lactonas macrocíclicas também interferem com estes receptores, porém sua atuação em receptores de invertebrados é aproximadamente 100 vezes maior (SCHAFFER; HAINES, 1989; TRACY; WEBSTER, 1996), o que reduz o risco de efeitos nocivos em mamíferos.

Sabe-se que em mamíferos as avermectinas têm efeito no sistema nervoso central (SNC) por potenciação da liberação de GABA, cujo receptor encontra-se acoplado a canais de cloro; este neurotransmissor inibitório encontra-se distribuído por todo SNC de

mamíferos<sup>1</sup> (DUCE & SCOTT, 1985; COURTNEY; ROBERTSON, 1995; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995; DAWSON et al., 2000; FENG et al., 2002; LIFSCHITZ *et al*, 2002; MOLENTO *et al.*,2004; NJUE *et al*, 2004; RODRIGUES-ALVES et al., 2007). Acredita-se que o mecanismo de ação da MOX é semelhante ao da ivermectina, do grupo das avermectinas, e ainda, ambas as drogas têm reação cruzada de tolerância (SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995).

Em uma visão simplificada, os neurônios centrais mudam sua atividade por causa da influência oposta de impulsos excitatórios e inibitórios. Aumento na descarga neuronal é frequentemente visto como consequência de aumento de impulsos excitatórios, enquanto inibição neuronal é consequência do aumento de impulsos inibitórios. (WINDELS; KIYATKIN, 2006). GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC de mamíferos.

Atualmente acredita-se que exista pelo menos três principais classes de receptores GABAérgicos chamados: GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub>, e GABA<sub>C</sub> (BORMANN, 2000; CHEBIB; JOHNSTON, 2000; CHEBIB et al., 2007). Os receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>C</sub> são membros da superfamília de canais ligados a íons, a qual inclui também os receptores nicotínicos da acetilcolina, de GLI sensível à estricnina e serotoninérgico tipo 3 (BORMANN, 2000; CHEBIB; JOHNSTON, 2000; CHEBIB *et al.*, 2007).

Pelo menos 16 subunidades de receptores GABA<sub>A</sub> têm sido descritas em seres humanos e classificadas em sete subfamílias de subunidades protéicas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ , e  $\pi$ . A combinação destas subunidades possibilita uma grande variabilidade de tipos de receptor GABA<sub>A</sub> (WHITING, 2003; CHEBIB et al., 2007), determinando a ação de drogas moduladoras (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2002). O receptor GABA<sub>A</sub> é responsável principalmente pela inibição pós-sináptica; seus agonistas são muscimol, ácido 3-

---

<sup>1</sup> RODRIGUES-ALVES, P. S. B.; LEBRUN, I.; FLORIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Moxidectin interference on motor activity of rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology** (no prelo).

aminopropanesulfônico (APSA) e THIP (4,5,6,7-tetra-hidroisoxazol[5,4-c]piridina-3-ol), e seus antagonistas a bicuculina (seletivo) e a picrotoxina (HILL; BOWERY, 1981; AGMO; GIORDANO, 1985).

O receptor GABA<sub>B</sub> é um membro da família de 3 classes de receptores ligados à proteína G (receptores trans-membrana), que são acoplados a canais de potássio (K<sup>+</sup>) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>), isto é, aumentam a condutância de K<sup>+</sup> e diminuem a do Ca<sup>2+</sup>, sendo responsável principalmente pela inibição pré-sináptica. Este receptor existe como heterodímeros, consistindo de subunidades GABA<sub>B1</sub> e GABA<sub>B2</sub>, as quais são requeridas para formar o receptor funcional tanto *in vivo* como *in vitro* (WHITE et al, 1998; ONG; KERR, 2000; CRYAN; KAUPMANN, 2005; CHEBIB et al., 2007). Seu agonista é o baclofen e os antagonistas faclofen e saclofen (BOWERY; HILL; HUDSON, 1983; AGMO; GIORDANO, 1985). Tanto o receptor GABA<sub>A</sub> como o receptor GABA<sub>B</sub> são distribuídos ubiqüamente no SNC de mamíferos.

O terceiro tipo, chamado receptor GABA<sub>C</sub>, forma um canal de cloro; é caracterizado por sua insensibilidade aos moduladores de receptores GABA<sub>A</sub> (barbitúricos e benzodiazepínicos), bem como ao seu antagonista clássico a bicuculina. O receptor GABA<sub>C</sub> é também insensível ao agonista de receptor GABA<sub>B</sub>, o baclofen (CHEBIB; JOHNSTON, 2000; CHEBIB et al, 2007). Por outro lado, este receptor é ativado pelo ácido (+)-*cis*-2-(aminometil)-ciclopropanecarboxílico [(+)-CAMP] e ácido *cis*-4-aminocrotônico (CACA) (DUKE et al, 2000; CHEBIB et al, 2007). O primeiro antagonista seletivo de receptor GABA<sub>C</sub> descrito foi o ácido (1,2,5,6-tetra-hidropiridina-4-il)metilfosfínico (TPMPA) (RAGAZZINO et al, 1996; CHEBIB et al, 2007); foram identificados recentemente também como antagonistas o ácido (±)-*cis*-(3-aminociclopentil)metilfosfínico [(±)-*cis*-3-ACPMPA] e o ácido (±)-*trans*-(3-aminociclopentil)metilfosfínico [(±)-*trans*-3-ACPMPA], que são mais

potentes, seletivos e lipofílicos, por isso atravessam a barreira hemato-encefálica, possibilitando a administração sistêmica (CHEBIB et al, 2007).

Comparado ao receptor GABA<sub>A</sub>, o receptor GABA<sub>C</sub> tem alta afinidade ao GABA, menor fluxo iônico e não leva a dessensibilização do canal por tempos longos de abertura (BORMANN; FEIGENSPAN, 1995; JOHNSTON, 1996; CHEBIB; JOHNSTON, 1999). O receptor GABA<sub>C</sub> é constituído somente de subunidades Ro ( $\rho$ ) indicando uma classe mais simples de receptores. Estudos de clonagem de receptores oriundos de seres humanos, de ratos, de camundongos e de retina de pintos mostraram cinco tipos de subunidades  $\rho$  chamadas subunidades  $\rho$ 1-5; em particular, os ratos possuem as subunidades  $\rho$ 1-3 (BORMANN, 2000; CHEBIB, JOHNSTON, 2000; CHEBIB et al., 2007). Estas subunidades formam receptores funcionais homoméricos (subunidades  $\rho$ 1,  $\rho$ 2, ou  $\rho$ 3) (KUSAMA et al, 1993; ENZ; CUTTING, 1998; OGURUSU et al, 1999; CHEBIB et al., 2007) ou receptores pseudo-heteroméricos (combinação das subunidades  $\rho$ 1 e  $\rho$ 2, ou  $\rho$ 2 e  $\rho$ 3) (ENZ; CUTTING, 1998; OGURUSU et al, 1999; CHEBIB et al., 2007).

Foi demonstrado que as subunidades  $\rho$  do receptor GABA<sub>C</sub> existem predominantemente na retina (ENZ et al, 1995, CHEBIB et al., 2007). Estudos recentes têm revelado suas expressões em outras regiões do cérebro, como o colículo superior, núcleo geniculado dorsolateral, córtex visual, cerebelo, medula espinhal e hipocampo (ENZ et al, 1995; BOUE-GRABOT et al, 1998; ALAKUIJALA; ALAKUIJALA; PASTERNAK, 2006; CHEBIB et al., 2007), além da pituitária (BOUE-GRABOT et al, 2000; CHEBIB et al, 2007) e intestino (JANSEN et al, 2000; CHEBIB et al, 2007).

Há na literatura vários trabalhos que avaliam os efeitos do GABA e de drogas GABAérgicas no comportamento sexual de ratos machos. Foi relatado que durante o período refratário pós-ejaculação, a concentração de GABA no fluido cérebro-espinhal aumenta

drasticamente, mostrando o papel inibitório deste neurotransmissor na atividade copulatória (QURESHI; SÖDERSTEN, 1986).

Agmo e Paredes (1985) mostraram diminuição na porcentagem e número de montas e intromissões após administração do agonista de receptores GABA<sub>A</sub> THIP, enquanto o agonista de receptor GABA<sub>B</sub>, baclofen, promoveu inibição quase completa do comportamento sexual. Por outro lado, a administração sistêmica de bicuculina, antagonista de receptores GABA<sub>A</sub>, não interferiu em nenhum parâmetro da cópula, porém quando administrada concomitante ao THIP produziu efeito inibitório intenso no comportamento sexual.

Bitran e Hull (1987) levando em consideração que os receptores GABAérgicos são heterogêneos, atribuíram o fato de um antagonista potencializar a ação de um agonista, como consequência do bloqueio pré- e pós-sináptico de receptores GABA<sub>A</sub>. Assim, o bloqueio pré-sináptico resultaria em liberação endógena do neurotransmissor GABA, o qual ativaria, preferencialmente, sítios GABA<sub>B</sub>, uma vez que os sítios GABA<sub>A</sub> estariam bloqueados pela bicuculina. Esta hipótese sugere também que o THIP pode ter algum efeito em receptor GABA<sub>B</sub>, e que a inibição do comportamento sexual de machos pelo GABA é mediada pela ativação de receptores GABA<sub>B</sub>.

Outros experimentos têm mostrado que o bloqueio estéreo-específico de sítios de ligação dos receptores GABA<sub>A</sub> da área pré-óptica medial (APOM) promove um potente efeito estimulante do comportamento copulatório (FERNANDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1985, FERNANDEZ-GUASTI; LARSSON, VEGA-SANABRIA, 1986). A administração de bicuculina diretamente na APOM resultou tanto na redução drástica do intervalo pós-ejaculatório, como na eliminação virtual da vocalização ultra-sônica normalmente emitida durante este período refratário (FERNANDEZ-GUASTI; LARSSON, VEGA-SANABRIA, 1986), enquanto a administração intracranial de bicuculina acelerou o



início do comportamento sexual de ratos ingênuos, que foram castrados e tratados com testosterona (FERNANDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986a). Já a administração do agonista GABA<sub>A</sub> muscimol, na área pré-óptica medial de ratos experientes, que não foram castrados, resultou na supressão do comportamento sexual, expresso pela diminuição na proporção de animais que realizaram montas, intromissões e ejaculação (FERNANDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986b). Assim, o bloqueio dos supostos sítios dos receptores GABA<sub>A</sub> na APOM facilitou tanto o início do comportamento copulatório após a ejaculação, bem como o restabelecimento deste comportamento em animais castrados que receberam testosterona.

A influência do GABA no reflexo de ereção peniana (EP) também tem sido investigado. Leipheimer e Sachs (1988) observaram que a administração sistêmica de diferentes doses (1,0 e 2,0 mg/kg) de baclofen promoveu diminuição dose-dependente da proporção de ratos exibindo ereções no teste do reflexo peniano em posição supina; porém, estas mesmas doses não tiveram efeito no comportamento de cópula. Por outro lado, a administração sistêmica de THIP ou bicuculina não afeta o reflexo peniano, nem o comportamento de cópula. Estes dados mostram uma influência maior dos receptores GABA<sub>B</sub> no reflexo de EP.

No mesmo sentido, Meisel e Sachs (1994), descrevendo o comportamento sexual de machos como macaco, cão, gato, e inclusive o homem, referem que a estimulação de receptores GABA<sub>B</sub> inibe os reflexos de ereção, enquanto que os receptores GABA<sub>A</sub> não têm influência na EP.

Os receptores GABA<sub>B</sub> estão presentes no corno dorsal da medula espinhal lombo-sacra (BOWERY; HILL; HUDSON, 1984; DAVIDOFF e HACKMAN, 1985) e a influência destes nas respostas do reflexo de EP tem sido estudadas. Bitran e Hull (1987) relataram que a administração de 0,2 µg de baclofen, por via intratecal, visando atuação na

medula espinhal lombo-sacra, causou aumento da latência para ereção e redução no número de EP; doses maiores (0,4 e 0,8 µg) diminuíram o número de animais exibindo EP. A maior dose produziu também um leve efeito inibitório no comportamento copulatório, caracterizado por aumento na latência para ejaculação em consequência de um maior número de montas sem intromissão. Por outro lado, quando da administração de baclofen, por via intratecal, porém, visando atuação na medula espinhal torácica, não se observaram efeitos nas respostas penianas (BITRAN et al., 1989).

Ativação ou inibição preferencial de receptores GABA<sub>A</sub> na APOM afetam o comportamento copulatório, enquanto ativação de receptores GABA<sub>B</sub> inibe EP reflexa (BITRAN et al., 1989). Em outros estudos, administração sistêmica de baclofen impede o comportamento copulatório (AGMO; PAREDES, 1985; PAREDES; AGMO, 1989), entretanto, prejuízo do comportamento sexual está também acompanhado por déficit na execução motora (BITRAN et al., 1989; PAREDES; AGMO, 1989).

Outros autores mostraram que a ativação de receptores GABA<sub>A</sub> por administração de muscimol no núcleo paraventricular (NPV) de ratos, reduziu EP e bocejo induzidos por apomorfina, NMDA e oxitocina, e este efeito não foi observado após administração de baclofen (MELIS et al., 2000; ARGIOLAS; MELIS, 2005).

Recentemente, em nossos laboratórios, observamos que a MOX foi capaz de prejudicar o comportamento sexual de ratos machos inexperientes, além de provocar incoordenação motora nestes animais quando testados na trave elevada<sup>1</sup> (RODRIGUES-ALVES, 2003; RODRIGUES-ALVES et al, 2007).

O comportamento sexual é freqüentemente considerado como parte de uma série de comportamentos padrões que têm um propósito ou função de manter as espécies

---

<sup>1</sup> RODRIGUES-ALVES, P. S. B.; LEBRUN, I.; FLORIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Moxidectin interference on motor activity of rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology** (no prelo).

(AGMO, 1999). Quando se observa o comportamento sexual de machos, são analisados a motivação e o desempenho sexual, mas apesar desta distinção, ambos estão intimamente relacionados (MEISEL; SACHS, 1994). O processo que faz o animal procurar contato sexual com outro animal é usualmente referido como motivação sexual ou libido; e o desempenho sexual ou potência é a eficiência de ereção e orientação penianas.

Os termos “libido” e “potência” são raramente usados no discurso científico, mesmo para homens, e mais raramente ainda para machos não humanos. Os termos mais comumente usados são motivação e desempenho, ou na terminologia etológica clássica, aspectos apetitivos e consumatórios do comportamento sexual. Em relação a este comportamento, uma distinção deve ser feita entre procurar o contato sexual (motivação ou libido) e estar apto para completar o ato copulatório (desempenho ou potência), porém, motivação sexual e capacidade erétil não são usualmente independentes uma da outra (MEISEL; SACHS, 1994).

A motivação sexual é basicamente diferente de outras motivações, como a fome, sede, esquiva da dor, e assim por diante. Enquanto a privação de comida e água ou a inflição de dor é potencialmente perigoso para o organismo, a abstinência sexual não tem, em curto prazo, conseqüências adversas ao indivíduo. Há muito tempo tem sido reconhecido que a motivação sexual, isto é, o desejo para empenhar-se na atividade sexual, é ativada pela presença de um(a) companheiro(a) (MEISEL; SACHS, 1994). Motivação sexual é, portanto, um caso de motivação incentivada (AGMO, 1999; 2003).

No caso de incentivo sexual, tem havido uma grande discussão sobre quais estímulos são incondicionados e quais são efetivos em decorrência de aprendizado prévio. Vários estudos têm demonstrado que uma rata sexualmente receptiva pode ativar diferentes comportamentos de aproximação em ratos sexualmente experientes (AGMO, 1999; 2003). Estes machos ficam mais tempo na proximidade da fêmea receptiva do que na proximidade

do macho, quando observados numa arena apropriada que impede a ocorrência de comportamento copulatório. Esta preferência pela fêmea não diminui depois de repetidas sessões, mostrando que as propriedades incentivadoras são mantidas mesmo na ausência de execução dos reflexos sexuais (copulação) (AGMO, 2003).

Por outro lado, os dados referentes ao comportamento de aproximação, obtidos com ratos inexperientes são conflitantes. Há autores que relataram que ratos inexperientes não mostraram nenhuma preferência pela fêmea receptiva (VEGA-MATUSZCZYK; APPA; LARSSON, 1994), enquanto outros observaram que estes animais têm tanta preferência pela rata quanto os ratos experientes (ELIASSON; MEYERSON, 1981; MERKX, 1984). Um estudo usando *straight runway* mostrou que ratos inexperientes correm mais rápidos para uma fêmea tratada com hormônios do que para a não tratada (LÓPEZ; OLSTER; ETTENBERG, 1999). Para auxiliar no entendimento destes achados conflitantes, Agmo (2003) mostrou a necessidade de fazer com que os ratos inexperientes se familiarizem com a arena, sem a presença dos animais iscas, uma semana antes do teste. Este autor mostrou também que a rata receptiva é um estímulo incondicionado para o rato, independente de sua experiência.

O desempenho sexual ou potência, outro aspecto do comportamento sexual, pode ser analisado através dos mecanismos que regulam a ereção e outros componentes penianos da copulação; esta análise pode ser facilitada pela observação destas respostas fora do contexto da copulação (*ex copula*) em ratos, cães e gatos. Respostas do pênis de ratos durante testes *ex copula* são similares, na forma, àqueles que ocorrem durante a cópula (LEIPHEIMER; SACHS, 1988).

A EP resulta da interação neural central e periférica que induz mudanças musculares e vasculares nos tecidos eréteis do aparelho genital masculino (corpo cavernoso, corpo esponjoso e outros músculos perineais, como o elevador do ânus, quando presente) (LEIPHEIMER; SACHS, 1988; ARGOLAS; MELIS, 2005). O aumento de fluxo sanguíneo

para o pênis simultâneo ao relaxamento dos tecidos eréteis do corpo cavernoso e corpo esponjoso é controlado pelo sistema nervoso autônomo (RAMPIN et al., 2004).

Os neurônios motores que inervam os músculos perineais estão localizados em um núcleo específico sexualmente dimórfico na região L<sub>5</sub>-L<sub>6</sub> da medula espinhal. Os músculos perineais e seus neurônios motores espinhais são andrógenos sensíveis (LEIPHEIMER; SACHS, 1988). A compreensão deste processo complica-se pelas influências humorais e endócrinas exercidas principalmente pela testosterona e seus metabólitos tanto a nível periférico quanto central (ARGIOLAS; MELIS, 2005).

Ereções reflexas podem ocorrer em ratos anestesiados eliciadas pelo nervo peniano dorsal (NPD), e conta com um arco reflexo que inclui uma rede de neurônios da medula lombo-sacra, como uma ligação entre o NPD, ou ramo aferente, e a descarga do sistema nervoso parassimpático da região do sacro como ramo eferente. O DPN conduz informações sensoriais do pênis e pele da região Peri genital para a medula lombo-sacra, e esta estimulação ativa uma rede de neurônios lombo-sacrais (RAMPIN et al., 2004). Em ratos, a descarga nervosa parassimpática pró-erétil origina-se no núcleo parassimpático do sacro (NPS), localizado no segmento L6-S1 da medula espinhal. O NPS contém neurônios pré-ganglionares que inervam o pênis (RAMPIN et al., 2004).

Sabe-se, portanto, que diferentes mecanismos neurais centrais e periféricos e/ou humorais endócrinos participam da regulação da resposta sexual, de maneira muito complexa (ARGIOLAS; MELIS, 2005). Por outro lado, disfunções do SNC ou sistema nervoso autônomo periférico, ou ambos podem prejudicar a realização da EP, mesmo quando os órgãos efetores chave (músculo liso vascular e corpo cavernoso) estão intactos. Dos mecanismos de controle central e periférico da EP somente foram identificados até agora àqueles que controlam a EP localmente no tecido peniano, em particular, os envolvidos com o relaxamento do corpo cavernoso, o evento chave para a realização de EP. Em contraste, pouco

se sabe dos mecanismos através dos quais o SNC exerce este controle. Recentemente algum progresso foi alcançado neste campo, tendo sido identificados vários neurotransmissores e neuropeptídeos no SNC, os quais controlam a função erétil (ANDERSSON; WAGNER, 1995; ARGIOLOS; MELIS, 1995; ANDERSSON, 2001).

Argiolas e Melis (2005) citando vários trabalhos da literatura observaram que os neurotransmissores e neuropeptídeos agem em diversas áreas do cérebro conduzindo informação ao aparelho genital através da medula espinhal, e que entre estas áreas do SNC, as mais estudadas são: a APOM, os núcleos paraventriculares (NPV) do hipotálamo, a amígdala, os núcleos paragigantocelulares da formação reticular ventral e a medula espinhal. Estes autores relataram também que grupos de pesquisadores com diferentes abordagens experimentais (farmacológicas, eletrofisiológicas e neuro-anatômicas) mostraram o importante papel dos NPV do hipotálamo no controle da função erétil. (ARGIOLOS; MELIS, 2005). Por outro lado, a APOM do hipotálamo anterior é uma região cerebral crítica para a iniciação do estímulo e comportamento sexuais (MEISEL; SACHS, 1994).

Melis et al. (2000) obtiveram redução de EP induzida por apomorfina, NMDA e oxitocina, quando administraram no NPV muscimol e não baclofen. Estudos posteriores mostraram que este efeito inibitório do muscimol na EP ocorre concomitante à redução no aumento de produção de óxido nítrico nos NPV hipotalâmicos, que acontece durante a indução de EP por drogas e oxitocina, e que este efeito é bloqueado por bicuculina também administrada nestes núcleos. Baseados nestes achados, os autores sugeriram que o estímulo de receptores GABA<sub>A</sub> prejudica a EP induzida por drogas, devido diminuição da atividade da enzima óxido nítrico sintase em neurônios oxitocinérgicos que medeiam a EP. (ARGIOLOS; MELIS, 2005).

Apesar da execução da EP ser essencial para o sucesso da reprodução, esta resposta sexual no rato pode ocorrer não só durante a atividade sexual, mas também em outros

contextos, como na presença de uma rata receptiva inacessível, ou após tratamento com várias classes de drogas de ação central ou periférica, como por exemplo, agonistas dopaminérgicos, agonistas serotoninérgicos, ( $\alpha$ -MSH)-peptídeos relacionadas ao hormônio adrenocorticotrofina-melanócito estimulante, oxitocina, análogos da hexarelina, doadores de óxido nítrico, inibidores da fosfodiesterase, ativadores solúveis da guanilato ciclase, inibidores da RhoA-Rho cinase, etc (SUCCU et al., 2003; ARGIOLAS; MELIS, 2005).

Em particular, a EP pode ser induzida pela administração sistêmica do agonista dopaminérgico, apomorfina. Uma vez que o antagonista dopaminérgico central haloperidol, e não a domperidona (antagonista periférico), diminui o efeito indutor de EP da apomorfina, foi proposto então, que a resposta a esta droga é devido a mecanismo(s) dopaminérgico central (PEHEK; THOMPSON; HULL, 1988; ZARRINDAST; FARAHVASH, 1994). Há evidências também que mecanismos GABAérgicos estão envolvidos na EP e na cópula de ratos (LEIPHEIMER; SACHS, 1988; ZARRINDAST; FARAHVASH, 1994).

Na avaliação do comportamento sexual, a motivação pode ser medida pela latência para primeira monta e, em geral, deve ser menor que um minuto. A latência para primeira intromissão freqüentemente é a mesma que a latência para primeira monta, mas às vezes pode ser mais longa. Intromissão requer EP e atividade coordenada dos músculos estriados do pênis e, conseqüentemente, não é inteiramente determinada pela motivação sexual (AGMO, 1997).

O número de montas é bastante variável e, provavelmente, reflete a motivação sexual, mas pode ser confundida com outros fatores, e deve ser interpretada com cautela. O número de intromissões mostra a facilidade pela qual o reflexo ejaculatório é ativado. A eficiência copulatória representa o desempenho sexual ou potência (AGMO, 1997). O intervalo inter-intromissão e a freqüência de montas por minuto podem refletir uma mistura de motivação e desempenho sexuais (AGMO, 1997).

Dados obtidos em nossos laboratórios mostraram que a MOX aumentou as latências para primeira monta e primeira intromissão, e o intervalo inter-intromissões; e também reduziu o número total de montas (RODRIGUES-ALVES et al, 2007). Estes dados não permitiram caracterizar se os efeitos comportamentais da MOX foram causados por alteração na motivação ou no desempenho sexual, ou em ambos. No presente trabalho utilizamos modelos experimentais para avaliar o efeito da MOX separadamente nestes dois aspectos do comportamento sexual.

Nossos resultados anteriores (RODRIGUES-ALVES, et al., 2007) mostraram também prejuízo da coordenação motora de ratos observados na trave elevada. Este achado corrobora outros que mostraram o envolvimento do sistema GABAérgico no controle motor. Em um estudo do funcionamento da rede neural que controla o comportamento motor em vertebrados, Tegnér et al. (1993) mostraram que ambos os receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> agem em conjunto na coordenação da locomoção. Kriem et al. (1998) sugeriram que a transmissão GABAérgica na substância nigra *pars reticulata* (SNr) tem um papel crucial no controle da atividade motora e na regulação dos movimentos.

Semelhante à maioria dos neurônios centrais no neocórtex, tálamo, hipotálamo, hipocampo, amígdala, e mesencéfalo, os neurônios da SNr são células autoativas (WINDELS; KIYATKIN, 2006). O ritmo de descarga *in vitro* dos neurônios da SNr mostrou-se diferente dependendo de sua localização antero-posterior (HAJOS; GREENFIELD, 1993), da espécie animal e possivelmente da temperatura (YUAN; YAMADA; INAGAKI, 2004), e efeito de bloqueio de receptores GABA pela administração de bicuculina. A liberação do GABA porém inibe tonicamente os neurônios da SNr (WINDELS; KIYATKIN, 2006).

Os neurônios da SNr de ratos têm uma sensibilidade mínima ao GLU, sugerindo que este impulso não é responsável pelo aumento tônico em sua atividade. Em contraste com o limitado impulso e esparsos receptores de GLU, os neurônios da SNr



recebem uma densa inervação do estriado e globo pálido e tem uma das maiores densidades de receptores GABAérgicos do cérebro (WINDELS; KIYATKIN, 2006).

Sendo um sítio final para a integração somato-sensória, os neurônios GABAérgicos da SNr disparam em ritmo relativamente estável. Resultados obtidos por Windels e Kiyatkin (2006) sugerem que a modulação pelo impulso GABAérgico, mas não pela influência oposta de GLU e GABA, é o fator primário responsável pela inibição em fases destas células induzidas por estímulo sensorial e pelos ajustes tônicos de sua atividade basal, e uma vez que a dopamina na SNr age via receptor D-1, esta modula os impulsos de GABA nos terminais GABAérgicos pré-sinápticos (YUNG et al., 1995), portanto, a perda de DA pode diminuir a inibição que o GABA exerce nos neurônios da SNr, resultando em sua hiperatividade (WINDELS; KIYATKIN, 2006).

Do exposto acima, temos que as vias GABAérgicas estão intrinsecamente relacionadas com as vias dopaminérgicas presentes nas áreas sensoriais e motoras do SNC, e estão envolvidas no controle dos comportamentos sexual e motor.

Assim, considerando que a MOX pode interferir com a transmissão GABAérgica e que este sistema participa da manifestação do comportamento sexual, dando continuidade ao nosso estudo anterior, propusemos, neste trabalho, a fim de auxiliar no entendimento do mecanismo de ação desta droga em mamíferos, avaliar tanto os efeitos da MOX na motivação e desempenho sexuais, bem como os efeitos de antagonistas GABAérgicos (biculina e faclofen) no desempenho sexual, além de avaliar os níveis de neurotransmissores de ratos expostos a MOX, no hipotálamo e estriado, áreas do SNC relacionadas com comportamentos sexual e motor, respectivamente.



## 2 OBJETIVOS

Estudar os efeitos da moxidectina (MOX) em aspectos do comportamento sexual de ratos machos e o envolvimento de sistemas de neurotransmissão central. Para tanto, avaliou-se em ratos machos expostos à dose terapêutica de MOX (0,2 mg/kg):

a motivação e desempenho sexuais;

os efeitos da administração de antagonistas GABAérgicos (biculina e faclofen) no desempenho sexual;

os níveis de neurotransmissores: aminas (dopamina, serotonina, noradrenalina) e seus metabólitos; e aminoácidos (GABA, glutamato e glicina, e aspartato); presentes no hipotálamo e no estriado.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Animais

Foram utilizados ratos machos adultos inexperientes, da linhagem Wistar, provenientes do biotério do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Os animais com aproximadamente 80 dias de idade foram alojados em caixas de polipropileno com tampa metálica medindo 40 x 50 x 20 cm, em número de quatro ou cinco por caixa. Estas caixas foram mantidas na Sala de Ciclo Invertido, com ciclo claro/escuro (CE) 12:12 h (luz acesa às 22:00 h), temperatura controlada ( $22 \pm 2$  °C), água e alimentação (ração comercial balanceada) *ad libitum*, por um período não inferior a 30 dias antes de serem colocados nas diferentes situações experimentais.

Cada animal foi utilizado em apenas um experimento.

#### 3.2 Drogas e outros

Moxidectina (Cydectin® - Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas).

Óleo de amêndoas (Leclerc Industrial Ltda., São Paulo): usado como veículo da moxidectina.

Xilazina 1% (Rompum® - Bayer): usado como pré-anestésico em ratas submetidas a ovariectomia.

Cloridrato de Cetamina - 100 mg/ml (Vetaset® - Fort Dodge): usado como anestésico em ratas submetidas a ovariectomia.

Riodeine® iodopovidona tópico (Rioquímica Indústria Farmacêutica): usado para antissepsia da pele das ratas submetidas à ovariectomia.

Vetaglós® pomada (Univet S.A. Indústria Veterinária): usada no tratamento das feridas cirúrgicas das ratas submetidas a ovariectomia.

Paracetamol (Tylenol® gotas - Janssen-Cilag Farmacêutica): usado como analgésico no período pós-operatório das ratas iscas.

Benzoato de  $17\beta$  estradiol e progesterona (Sigma): usados no tratamento das ratas iscas, conforme descrito abaixo.

Cloridrato de apomorfina (Sigma)

GABA<sub>A</sub> Bicuculina (Serva – Fein Biochemica Heidelberg): antagonista de receptor

Faclofen (Sigma): antagonista de receptor GABA<sub>B</sub>

Etanol (Cooperalcool® - Coopersucar Indústria Brasileira): usado para limpeza dos aparelhos utilizados nos experimentos, numa solução a 5 %.

A MOX foi diluída em óleo de amêndoas, obtendo-se a concentração de 0,2 mg/mL. Os animais receberam 1,0 mL/kg desta preparação por via subcutânea (SC).

A xilazina e a cetamina foram administradas, por via intraperitoneal (IP), para a anestesia das ratas submetidas a ovariectomia bilateral. No período pós-operatório foram colocadas seis a sete gotas de paracetamol em 200 mL de água oferecida no bebedouro das ratas iscas, por quatro a cinco dias, sendo trocada diariamente.

O  $17\beta$  estradiol e a progesterona foram diluídos em óleo de amêndoas, sendo administrados nas doses de 50 µg/kg e 2 mg/kg, respectivamente, por via SC, em volume de

1,0 mL/kg nas ratas iscas utilizadas na avaliação da motivação sexual, 54 e 6 horas, respectivamente, antes do início de cada sessão experimental.

A apomorfina foi diluída em solução de cloreto de sódio 0,9% gelada, obtendo-se a concentração de 80 µg/mL, sendo administrado 1,0 mL/kg por via SC. Esta droga foi mantida em gelo e ao abrigo da luz durante toda a sessão experimental.

A bicuculina, droga antagonista GABA<sub>A</sub>, foi diluída em solução de cloreto de sódio 0,9% com ácido acético glacial (pH 4,0), na concentração de 1,5 mg/mL, e administrada por via intraperitoneal (IP) em volume de 1,0 mL/kg.

O faclofen, droga antagonista GABA<sub>B</sub>, foi diluída em solução de cloreto de sódio 0,9% na concentração de 1,0 mg/mL, sendo administrado IP em volume de 1,0 mL/kg.

### 3.3 Procedimentos

Com 70 a 80 dias de idade, os ratos machos inexperientes foram colocados na Sala de Ciclo Invertido e mantidos em ciclo CE 12:12 h (luz acesa às 22:00 h), para adaptação do ciclo biológico, por no mínimo, 30 dias antes do início dos experimentos. As ratas iscas utilizadas na avaliação da motivação sexual também foram colocadas nesta sala após serem submetidas à ovariectomia e recuperadas da anestesia.

As observações comportamentais foram realizadas na Sala de Ciclo Invertido, iluminada com duas lâmpadas vermelhas (20 W), entre 12:00 h e 18:00 h.

Cada rato, com idade mínima de 100 dias, foi utilizado somente em um experimento.

#### 3.3.1 Avaliação da Motivação Sexual

Para avaliação da motivação sexual dos machos foram utilizadas fêmeas, sexualmente receptivas (iscas), submetidas a uma cirurgia para retirada dos ovários e cio induzido pela administração de hormônios. Sucintamente, as ratas foram anestesiadas com 1,0 mL/kg de uma solução de cetamina e xilazina (1:2) administrada por via intraperitoneal (IP). Após a constatação da anestesia, procedeu-se à tricotomia e a anti-sepsia da pele (com álcool e Riodeine® tópico), e a incisão no flanco direito para exposição do ovário; fez-se, então, uma ligadura no ligamento meso-ovariano com fio de algodão preto e retirou-se a gônada com auxílio de um bisturi. A seguir, procedeu-se a sutura do peritônio, tecido subcutâneo e pele

com pontos contínuos. Repetiu-se o mesmo procedimento para a retirada do ovário esquerdo, e ambas as feridas cirúrgicas foram tratadas com Vetaglós® pomada. No período pós-operatório imediato as fêmeas foram colocadas individualmente em caixas de polipropileno com tampa metálica medindo 30 x 20 x 13 cm forradas com maravalha, sob luz para mantê-las aquecidas até a recuperação da anestesia quando, então, foram levadas para a Sala de Ciclo Invertido. As quatro ratas foram tratadas com paracetamol, conforme descrito no item 3.2. Após quatro a cinco dias, uma vez constatada a cicatrização da ferida cirúrgica, estas ratas foram todas transferidas para uma caixa de polipropileno com tampa metálica medindo 40 x 50 x 20 cm, e mantidas nesta sala até o experimento.

Estas fêmeas foram utilizadas como iscas (ou incentivos) após 21 dias, no mínimo, tempo este necessário para a eliminação dos hormônios circulantes e adaptação ao ciclo de luz invertido (AGMO; PAREDES; FERNÁNDEZ, 1987; RODRIGUES-ALVES, 2003).

A receptividade sexual das ratas foi induzida pela administração de 50 µg/kg de 17β estradiol e 2,0 mg/kg de progesterona, 54 e 6 horas, respectivamente, antes do início de cada sessão experimental, e testada colocando-se a fêmea com um macho sexualmente ativo (isca) na caixa para observação de comportamento sexual, permitindo-se a realização de algumas montas e observando-se a presença de lordose nas ratas, ou seja, a presença simultânea de flexão côncava do dorso, desvio lateral da cauda e extensão do pescoço (SÖDERSTEN, 1978; SÖDERSTEN; ENEROTH, 1980; SÖDERSTEN et al., 1986). Estas ratas iscas podem ser reutilizadas somente após um intervalo de duas semanas.

A arena para observação da motivação sexual é redonda, com diâmetro de 80 cm, contornada por uma parede de 30 cm de altura, exceto na região de frente aos compartimentos dos animais iscas (ou incentivos). Estes compartimentos, diametralmente opostos, medem 30 x 30 x 30 cm; suas paredes laterais e a do fundo são fechadas e sua parede



frontal, aberta para a arena, possui uma grade de metal (malha de 12 mm<sup>2</sup>) que permite apenas contato visual e olfativo entre os animais iscas e teste. Durante a observação foi colocada maravalha de madeira sobre o piso destes compartimentos.

A arena, bem como os compartimentos dos animais iscas, são pintados de branco, com exceção da grade de metal que é de cor cinza; no piso em frente a cada compartimento, é delimitada, com linhas pretas, a zona de incentivo (ZI) com 30 x 20 cm. Este aparelho fica apoiado sobre pés com 60 cm de altura (Fig. 1).

Uma semana antes do teste, os ratos inexperientes foram familiarizados com a arena de observação, porém sem a presença dos ratos iscas; para tanto foram colocados individualmente para explorá-la, por cinco minutos em três dias consecutivos (AGMO, 2003).

Para o teste da motivação sexual os ratos iscas, uma fêmea receptiva (incentivo sexual) e um macho sexualmente experiente (incentivo social), foram colocados nos compartimentos contíguos à arena 20 min antes do início das observações dos animais testes. Cada rato a ser testado foi colocado individualmente no centro da arena e observados por 20 min, sendo avaliados os seguintes parâmetros: tempo em segundos de permanência nas zonas de incentivo da fêmea (ZIF), e do macho (ZIM); frequência de visitas a cada ZI (número de vezes que o animal entra com as quatro patas na ZIF ou ZIM).

A partir destes dados foram calculados a média de duração das visitas à ZIF ou ZIM e o escore de preferência, que consiste na razão entre o tempo de permanência na ZIF e o tempo total de permanência nas duas ZI, ou seja:

$$\text{Escore de Preferência} = \frac{\text{tempo de permanência na ZIF}}{\text{tempo de permanência na ZIF} + \text{tempo de permanência na ZIM}}$$

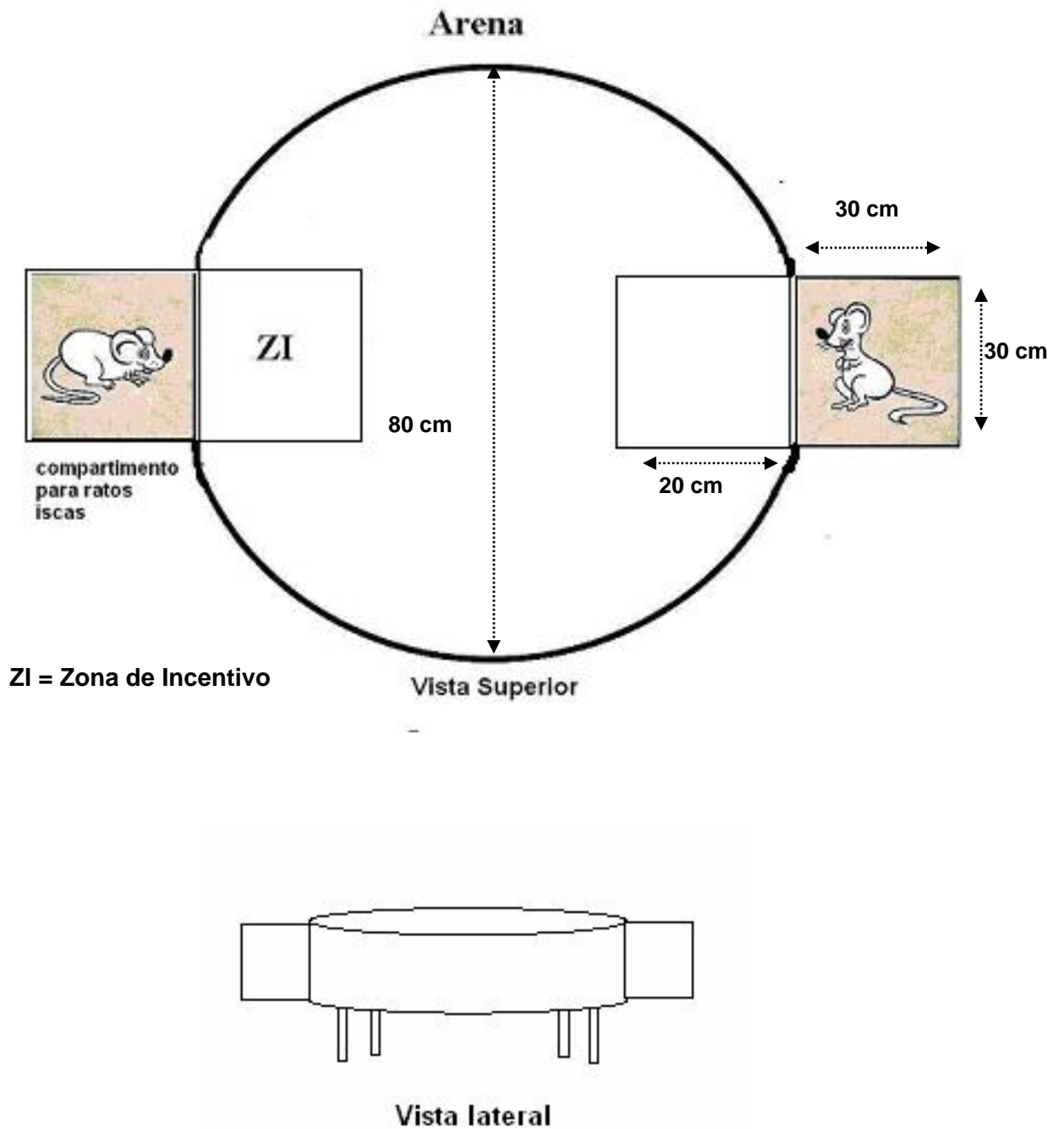


Figura 1 – Ilustrações esquemática da arena para avaliação da motivação sexual

### 3.3.2 Avaliação do Desempenho Sexual

O desempenho sexual foi avaliado por meio do teste de ereção peniana induzida pela apomorfina (MELIS; MAURI; ARGIOLAS, 1994; ANDERSEN; TUFIK, 2004). Este teste foi realizado em uma caixa confeccionada em vidro, medindo 30 x 30 x 30 cm, com a parede posterior de espelho. Esta caixa fica apoiada em quatro pés de metal com 10 cm de altura, sobre um espelho plano com 40 x 40 cm. (Fig. 2).

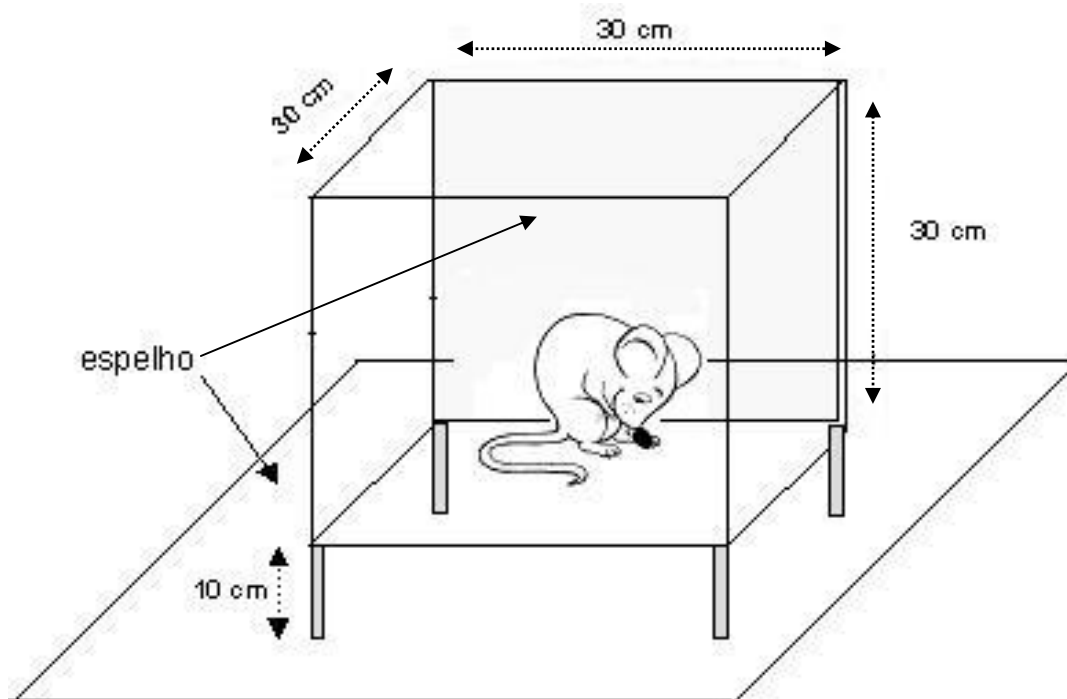


Figura 2 – Ilustração esquemática da caixa para observação da ereção peniana.

Os animais foram colocados individualmente na caixa imediatamente após a aplicação SC de 80 µg/kg de apomorfina e observados por uma hora. Considerou-se ereção peniana quando o rato se levantou sobre suas patas posteriores, inclinou-se para frente até alcançar a área genital, manipulou seu pênis em ereção total, com ligeiros movimentos pélvicos (Fig. 3)

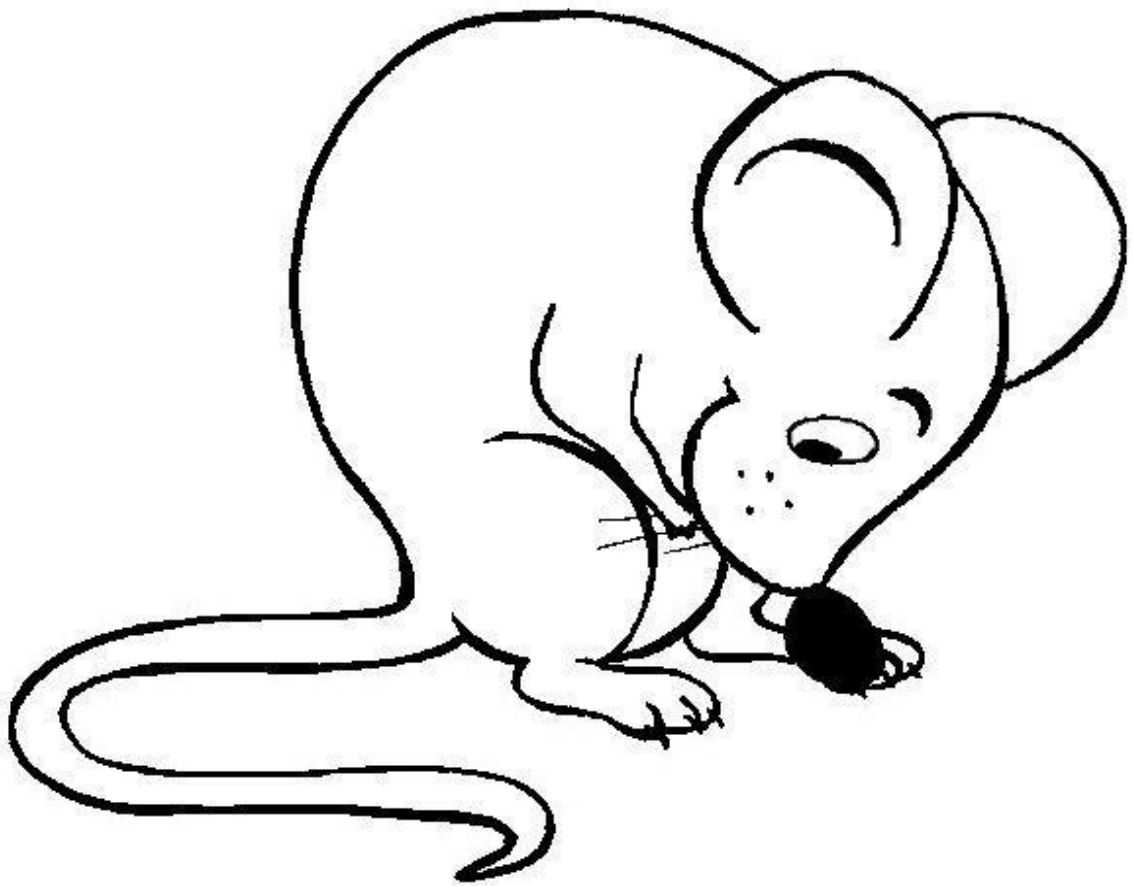


Figura 3 – Ilustração do rato em ereção peniana.

Os parâmetros avaliados foram: latência para primeira ereção peniana medida em minutos e frequência de ereções penianas. Para que as latências de todos os ratos pudessem ser consideradas nos cálculos estatísticos, foram convertidas em escores, conforme descrito na Tab. 1.

Tabela 1 – Escores atribuídos à latência para primeira ereção peniana (EP) observadas em minutos, de ratos tratados com 80 µg/kg de apomorfina.

Escore	Latência (min)
1	0 a 10 minutos
2	11 a 20 minutos
3	21 a 30 minutos
4	31 a 40 minutos
5	41 a 50 minutos
6	51 a 60 minutos
7	Ratos que não apresentaram EP

### 3.3.3 Avaliações Neuroquímicas

Para a realização das dosagens neuroquímicas os ratos foram submetidos à eutanásia por decapitação, o cérebro foi retirado do crânio e lavado em solução de cloreto de sódio 0,9% gelada (4°C), sendo, em seguida, dissecado sobre placa de gelo, rodeado por gelo seco. As amostras encefálicas de interesse (hipotálamo e estriado) foram colocadas separadamente em tubos de polipropileno do tipo *eppendorf* e estocados em nitrogênio líquido (-80°C); todo este procedimento foi realizado, no máximo, em 3min.

No final dos sacrifícios os tecidos cerebrais foram pesados e diluídos em uma solução de ácido perclórico 0,1 M (8,68 mL de ácido perclórico, 200 mg de metabissulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), 200 mg de ácido diaminoetilenotetracético dissódico (EDTA), q.s.p. 1000mL de água MilliQ). Antes da diluição, para cada 50 mL de ácido perclórico são adicionados 10 µL de 3,4 diidroxibenzilamina (DHBA). O DHBA foi escolhido como padrão interno por ter as mesmas características físico-químicas que as monoaminas a serem dosadas. Isto feito, o material foi homogeneizado por sonicação (caneta sonicadora – Lab Line Instruments), durante 2 ou 3 minutos sob refrigeração com gelo seco.

Os homogenatos obtidos foram conservados em geladeira por toda a noite (*overnight*) para a precipitação de proteínas e ácidos nucleicos, interferentes nas amostras. Na manhã seguinte o material foi centrifugado a 11.000 giros por 20 minutos. Os sobrenadantes foram retirados, devidamente acondicionados em tubos tipo *eppendorf* e mantidos em freezer (-80 °C) até o momento da análise das amins, que foram realizadas em uma semana.

As monoaminas, dopamina (DA), seus metabólitos ácido homovanílico (HVA) e ácido 4,4-diidroxifenilacético (DOPAC); serotonina (5-HT) e seu metabólito ácido 5-hidroindol, 3-acético (5HIAA), e noradrenalina (NOR) foram dosadas por Cromatografia

Líquida de Alta Eficiência (HPLC), com detector eletroquímico. Posteriormente foram calculadas as relações DOPAC/DA, HVA/DA e 5HIAA/5-HT como indicadores da taxa de renovação (*turnover*) de DA e 5-HT, respectivamente.

O método HPLC utilizado foi previamente descrito por Felício et al. (1996). Utilizou-se um cromatógrafo líquido acoplado a um detector eletroquímico (HPLC-ED; Shimadzu Modelo 6A). O HPLC-ED é composto de um recipiente injetor (válvula) de 20 µl, bombas de fluxo A e B, um sistema controlador (monitoramento de fluxo, pressão e temperatura), uma coluna cromatográfica (C-18 medindo 150 x 4,6 mm com partículas de 5 µm – Shimpak) com filtro de linha, um detector eletroquímico e um integrador modulado Chromatopac. A técnica utilizada é a de cromatografia em fase reversa com pareamento iônico. Esta técnica fundamenta-se na cromatografia de partição ou absorção. As condições de trabalho foram as seguintes: temperatura – 50 °C; tempo de obtenção dos picos: até 24 min. Cada amostra foi corrida por 28 min e o limite de detecção foi de 2 pg para DA, DOPAC, 5-HT, e 5-HIAA, e 20 pg para HVA.

A fase móvel para o HPLC utilizada, foi um sistema isocrático formado por um tampão citrato 0,02 M, metanol 92/8 (v/v), 0,12 nM EDTA sódico e 0,0556% de ácido 1-heptanosulfônico (HSA). O pH foi ajustado para 3 com ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). A fase móvel foi filtrada com membranas milipore de 0,22 µm em sistema à vácuo e de-aerada por 15 minutos com fluxo constante de um degaseificador a Hélio, antes de ser instalada no HPLC. Em seguida circulou no sistema cromatográfico fechado por 12 horas (*overnight*) para estabilização da coluna e da linha de base, operando em fluxo constante de 1,0mL/min. O detector foi mantido com um potencial de 0,8 V no eletrodo de trabalho.

A caracterização das diferentes substâncias analisadas se dá pelo tempo de retenção, reflexo da polaridade destes compostos. Desta forma, substâncias mais polares se retêm menos na sílica da coluna, apresentando um tempo de retenção menor.



Os padrões das monoaminas em concentrações de 1 nM de dopamina e seus metabólitos DOPAC e HVA, serotonina e seu metabólito 5HIAA, e de noradrenalina são diluídos em solução de ácido clorídrico 0,1 M contendo 0,02% de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, distribuídos em tubos de polipropileno do tipo eppendorf de 1,5 ml e em seguida congelados em freezer -80 °C por período não superior a 2 meses. No momento da análise os padrões foram descongelados e diluídos 2500 a 10.000 vezes com solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M. Todos os dias antes do início das corridas analíticas, os padrões diluídos foram injetados intercaladamente, e também no final das dosagens dos homogenatos. A curva de calibração é obtida com o auxílio de 3 concentrações diferentes de padrão.

Para a dosagem dos aminoácidos, 100 µL dos homogenatos de cada amostra armazenados em tubos tipo *eppendorf* foram acondicionados em caixa térmica com nitrogênio líquido e levadas para o Instituto Butantan (Unidade de Bioquímica e Biofísica - Dr. Ivo Lebrun), onde foram liofilizadas e armazenadas. No momento das dosagens dos aminoácidos (GABA, GLU, GLI e aspartato), as amostras foram novamente diluídas.

Para a avaliação dos aminoácidos empregou-se derivação com fenil-isotiocianato e HP LC (HP modelo Chemstation série 1100) com coluna 4,6 x 250 nm Beckman 5µ Ultrasphere ODS-PHT, e um injetor de amostras (válvula para 1,0 mL). O limite de detecção para os aminoácidos foi de 20 pg (HEINRIKSON; MEREDITH, 1984).

### 3.4 Análises Estatísticas

Foi empregado o software GraphPad InStat v2.01© para a realização das seguintes análises estatísticas:

- Teste de Bartlett: foi empregado para avaliar a homocedasticidade dos dados;
- Análise de variância ANOVA mono-caudal, para dados paramétricos, seguida do teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer para comparação entre as médias de três ou mais grupos;
- Método de Kolmogorov e Smirnov para avaliar se as populações seguem a distribuição de Gauss, para comparação entre dois grupos;
- Teste t não pareado mono-caudal, com correção de Welch para comparação das médias entre dois grupos.
- Teste U para dados não paramétricos, comparando-se dados de dois grupos.

O nível de significância crítico admitido para rejeição da hipótese de nulidade foi de uma probabilidade de 5% ( $p < 0,05$ ) em todas as análises empregadas.

## 4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS

### 4.1 Experimento 1 Efeitos da moxidectina na motivação sexual de ratos

Os ratos foram distribuídos em dois grupos: um controle com sete animais e um experimental com oito. Os ratos de ambos os grupos, por serem inexperientes, foram colocados individualmente na arena de observação para exploração do ambiente, por 5 min em três dias consecutivos, na ausência dos animais iscas, conforme descrito no item 3.3.1. Uma semana depois, os ratos do grupo experimental receberam 0,2 mg/kg de MOX (SC) e os animais do grupo controle receberam 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas pela mesma via, sendo avaliada a motivação sexual após 72 h. Para tanto, os animais iscas, isto é, uma fêmea receptiva e um macho sexualmente experiente foram colocados nos respectivos compartimentos, e após 20 min cada animal teste foi colocado individualmente na arena e observado por 20 min, sendo avaliados a frequência de visitas e o tempo de permanência nas ZI demarcadas em frente aos ratos iscas, posteriormente foram calculados o escore de preferência e a média de duração das visitas a cada ZI, conforme descrito no item 3.3.1.

A Tabela 2 e Figura 4 mostram os efeitos da MOX na motivação sexual dos ratos. Nota-se que não houve diferenças significantes entre os grupos controle e experimental em nenhum dos parâmetros avaliados. Por outro lado, observa-se que tanto os ratos do grupo controle como aqueles do grupo experimental tiveram preferência pelo incentivo sexual, pois o tempo de permanência e a média de duração das visitas na Zona de Incentivo do Macho (ZIM) foram significativamente menores àquelas da Zona de Incentivo da Fêmea (ZIF).

Tabela 2 – Efeitos da administração de 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX) em parâmetros de motivação sexual de ratos observados 72 h após o tratamento. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões; n = número de animais.

Parâmetros	Grupos	
	Controle (n = 7)	MOX (n = 8)
Tempo de permanência na ZIF (s)	693,86 ± 69,17	705,13 ± 70,82
Tempo de permanência na ZIM (s)	259,71 ± 68,05 <sup>a</sup>	236,00 ± 50,72 <sup>a</sup>
Média de duração das visitas à ZIF (s)	40,83 ± 3,09	30,49 ± 3,78
Média de duração das visitas à ZIM (s)	17,72 ± 3,52 <sup>a</sup>	17,21 ± 3,40 <sup>a</sup>
Frequência de visitas à ZIF	18,71 ± 1,02	21,25 ± 3,28
Frequência de visitas à ZIM	13,86 ± 1,2	16,38 ± 3,70
Escore de preferência	0,73 ± 0,07	0,74 ± 0,06

<sup>a</sup>p<0,05, teste t de Student, em relação à ZIF; p>0,05 Teste U (escore). Zona de incentivo da fêmea (ZIF); Zona de incentivo do macho (ZIM); segundos (s);

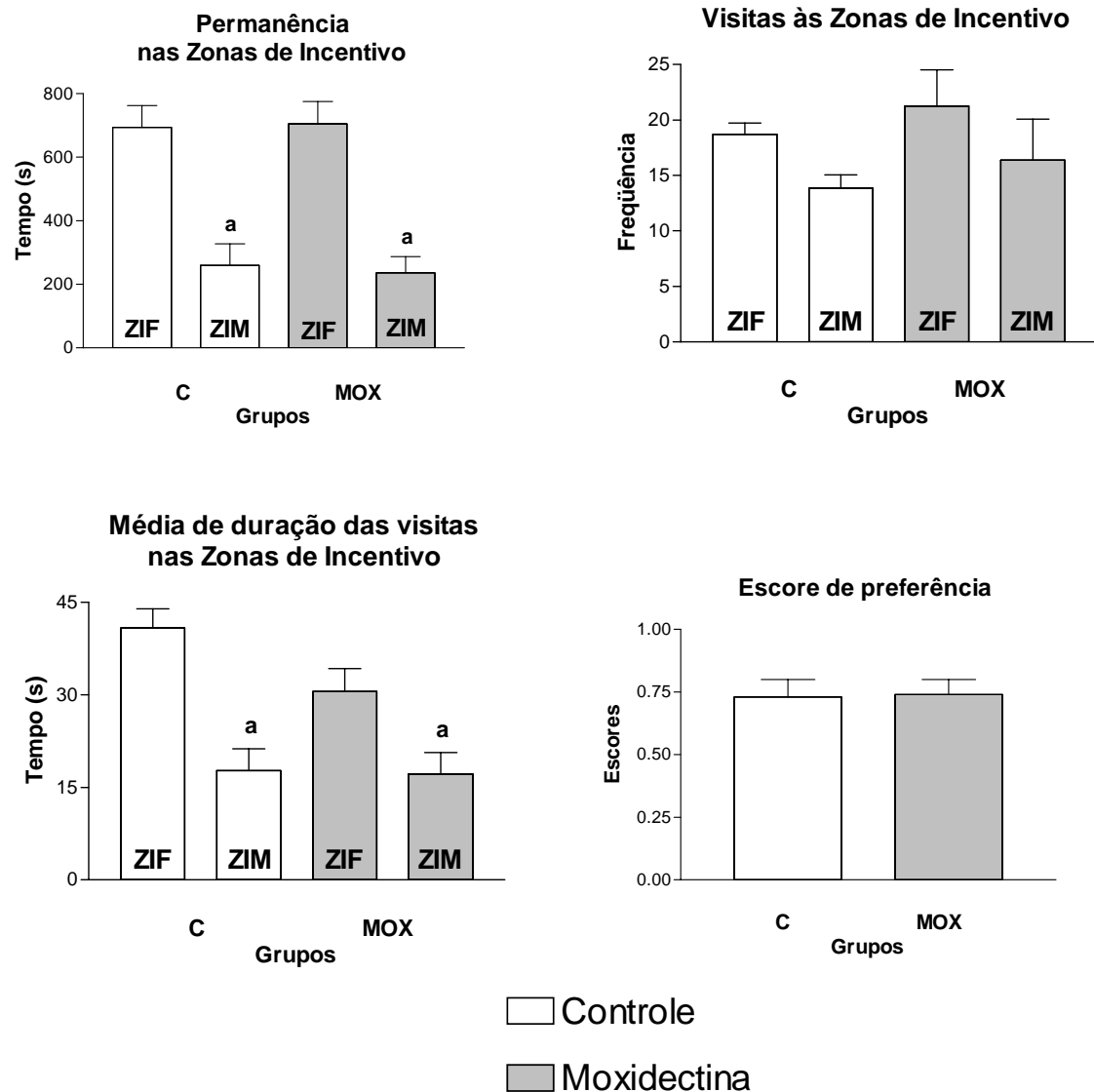


Figura 4 – Efeitos da administração de 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX) em parâmetros da motivação sexual de ratos machos observados 72 h após o tratamento; grupo controle (C) n = 07 e grupo MOX n = 08. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões. Zona de incentivo da fêmea (ZIF); zona de incentivo do macho (ZIM). <sup>a</sup>p<0,05 teste t de Student, em relação à ZIF; p>0,05, teste U (escore).

#### 4.2 Experimento 2 Efeitos da moxidectina no desempenho sexual de ratos

Foram utilizados 20 ratos, distribuídos em dois grupos iguais: experimental e controle. Os ratos do grupo experimental receberam 0,2 mg/kg de MOX (SC) e os animais do grupo controle receberam 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas; após 72 h deu-se início a observação individual dos ratos por 60 min, imediatamente após a aplicação SC de 80 µg/kg de apomorfina, conforme descrito no item 3.3.2.

A Tabela 3 e a Figura 5 mostram os efeitos da MOX na ereção peniana. Assim, nota-se que a MOX foi capaz de aumentar a latência para primeira EP, bem como reduzir a frequência de EP induzida por apomorfina, quando comparada com aquela do grupo controle. Por outro lado, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos quando se comparou a porcentagem de animais que apresentaram EP.

Tabela 3 – Parâmetros de ereção peniana induzida por apomorfina (80 µg/kg) em ratos observados 72 horas após o tratamento com 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX). São apresentadas as médias e respectivos erros padrões; n=10 por grupo.

Parâmetros	Grupos	
	Controle	MOX
Latência para 1ª ereção peniana (escores)	2,10 ± 0,59	3,20 ± 0,85*
Frequência de ereção peniana	3,10 ± 0,55	1,60 ± 0,48*
Porcentagem de ereção peniana	90	70

\*p<0,05 Teste t de Student, em relação ao grupo controle.

### EREÇÃO PENIANA

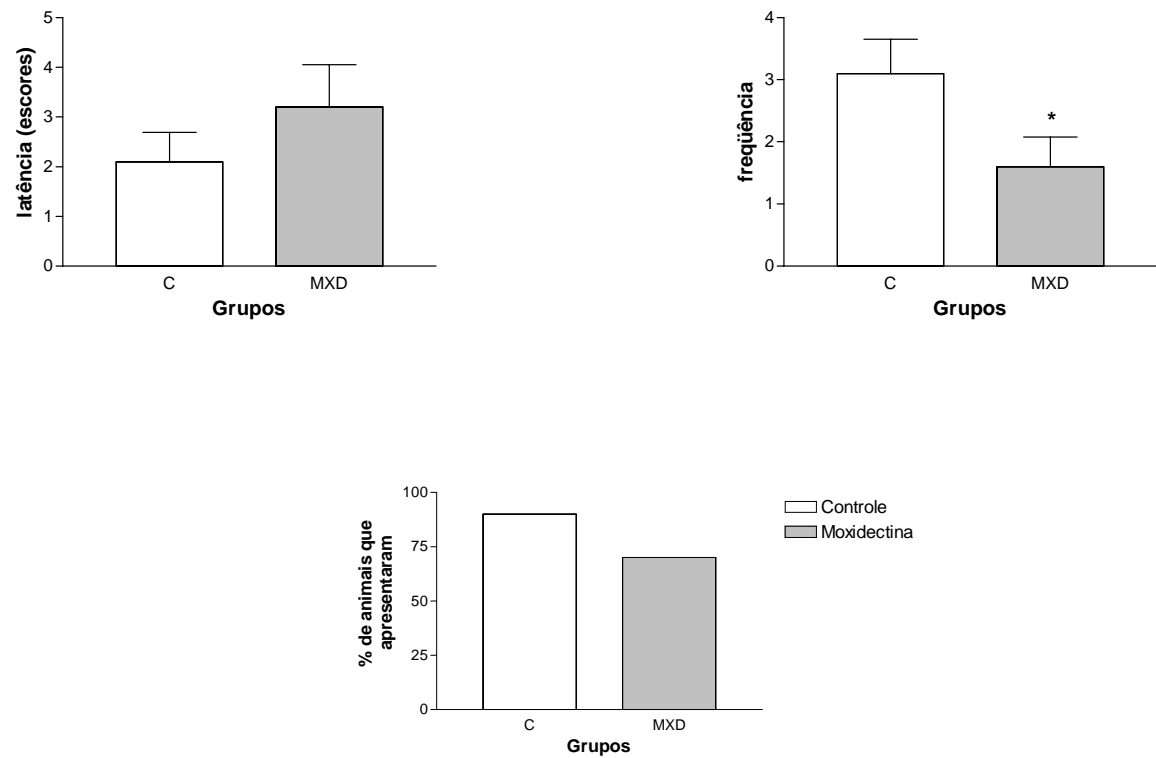


Figura 5 – Parâmetros de ereção peniana (EP) induzida por apomorfina (80 µg/kg) em ratos observados 72 horas após o tratamento com 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX); n = 10 por grupo. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões; \*p<0,05 teste t de Student, em relação ao grupo controle (C).



### 4.3 Experimento 3 Efeitos de antagonistas GABAérgicos no desempenho sexual de ratos tratados com moxidectina

Foram utilizados 48 ratos distribuídos em seis grupos iguais, que receberam os seguintes tratamentos:

- Grupo Controle: administrou-se 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas (SC); após 72 h, 0,1 mL/kg de solução de cloreto de sódio 0,9% (IP) e aguardou-se 15 min para administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

- Grupo MOX: administrou-se 0,2 mg/kg de moxidectina (SC); após 72 h, 0,1 mL/kg de solução de cloreto de sódio 0,9% (IP) e aguardou-se 15 min para a administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

- Grupo BIC: administrou-se 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas (SC); após 72 h, 1,5 mg/kg de bicuculina (IP) (antagonista de receptor GABA<sub>A</sub>) e aguardou-se 15 min para administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

- Grupo MOX + BIC: administrou-se 0,2 mg/kg de moxidectina (SC); após 72 h, 1,5 mg/kg de bicuculina (IP) e aguardou-se 15 min para administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

- Grupo FAC: administrou-se 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas (SC); após 72 h, 1,0 mg/kg de faclofen (IP) (antagonista de receptor GABA<sub>B</sub>) e aguardou-se 15 min para administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

- Grupo MOX + FAC: administrou-se 0,2 mg/kg de moxidectina (SC); após 72 h, 1,0 mg/kg de faclofen (IP) e aguardou-se 15 min para administração de 80 µg/kg de apomorfina (SC).

Imediatamente após a administração de apomorfina, cada rato foi colocado individualmente na caixa de observação, sendo avaliada a ereção peniana, conforme descrito no item 3.3.2.

A Tabela 4 e a Figura 6 mostram os efeitos da administração de antagonistas GABAérgicos na ereção peniana induzida por apomorfina em ratos observados 72 horas após o tratamento com 0,2 mg/kg de MOX. Assim, nota-se que a MOX reduziu a frequência de ereção peniana, enquanto os antagonistas GABAérgicos por si só não foram capazes de causar nenhuma alteração neste parâmetro. A administração do antagonista GABA<sub>A</sub>, bicuculina, foi capaz de reverter o efeito da MOX na frequência de ereção peniana, enquanto o faclofen, antagonista de receptores GABA<sub>B</sub>, teve efeito oposto, isto é, aumentou a frequência de ereção peniana em relação aos ratos do grupo controle ( $p < 0,05$ ).

Observou-se também aumento da latência para primeira ereção peniana dos ratos do grupo MOX em relação aquela dos animais do grupo controle e dos demais grupos ( $p < 0,05$ ), enquanto a porcentagem de animais que tiveram ereção peniana de todos os grupos experimentais não apresentou diferenças significantes entre eles e em relação aos animais do grupo controle.

Tabela 4 – Efeitos de antagonistas GABAérgicos em parâmetros de ereção peniana (EP) induzida por apomorfina (80 µg/kg), em ratos observados 72 horas após o tratamento com 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX). São apresentadas as médias e respectivos erros padrões; n = 8 por grupo.

GRUPOS	Latência para 1ª EP (escore)	Frequência de EP	Porcentagem de ratos que apresentaram EP
Controle	1,38 ± 0,18	3,50 ± 0,27	100
MOX	3,50 ± 1,04*	1,50 ± 0,60*	62,5
BIC	1,29 ± 0,16 <sup>a</sup>	3,71 ± 0,31 <sup>a b</sup>	100
MOX+BIC	1,43 ± 0,18 <sup>a</sup>	3,58 ± 0,26 <sup>a b</sup>	100
FAC	1,38 ± 0,18 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,40 <sup>a b</sup>	100
MOX+FAC	1,13 ± 0,13 <sup>a</sup>	5,50 ± 0,27* <sup>a</sup>	100

\*p<0,05 em relação ao grupo controle; <sup>a</sup>p<0,05 em relação ao grupo MOX; <sup>b</sup>p<0,05 em relação ao grupo MOX+FAC; ANOVA seguida do teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer. Bicuculina (BIC); Faclofen (FAC)

### EREÇÃO PENIANA

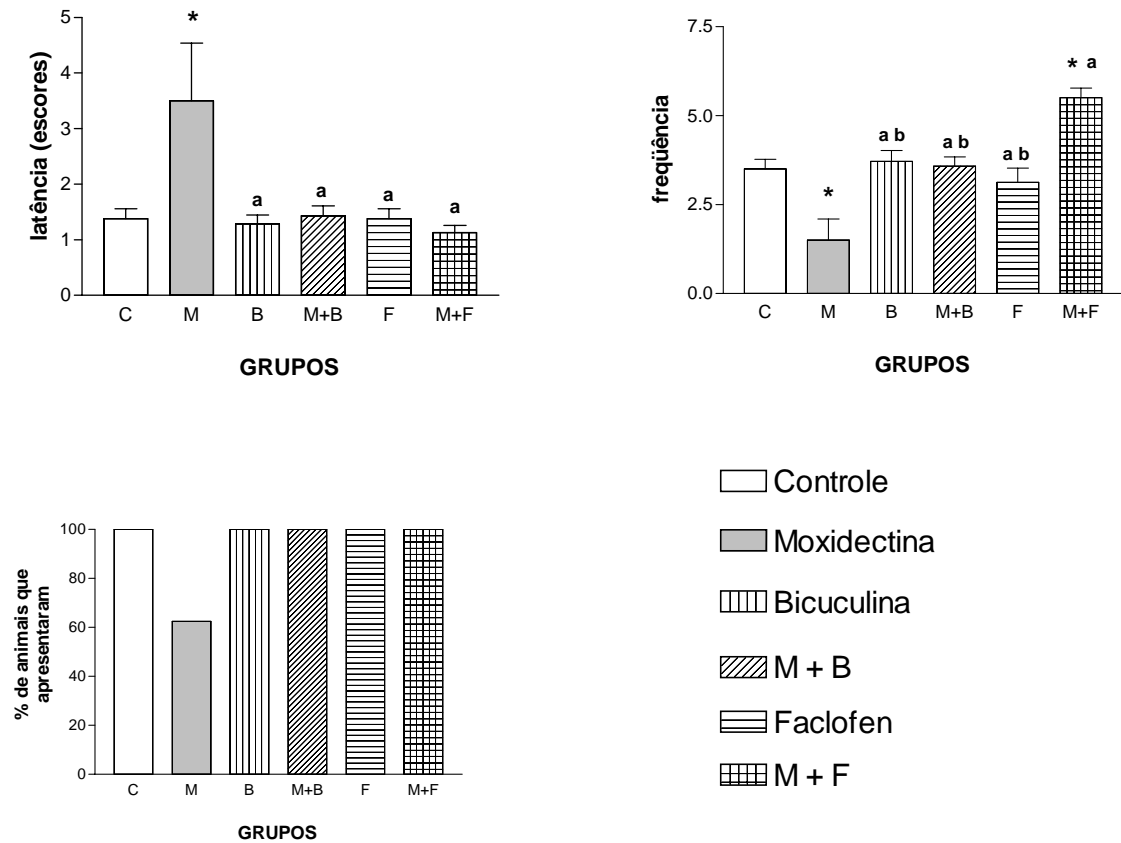


Figura 6 – Efeitos de antagonistas GABAérgicos em parâmetros de ereção peniana (EP) induzida por apomorfina (80 µg/kg), em ratos observados 72 horas após o tratamento com 0,2 mg/kg de moxidectina (M); n = 08 por grupo. São apresentadas as médias e respectivos erros padrões; p<0,05 ANOVA seguida do teste de múltiplas comparações de Tukey-Kramer, \* em relação ao grupo controle (C); <sup>a</sup> em relação ao grupo M; <sup>b</sup> em relação ao grupo M + F. Bicuculina (B); Faclofen (F).

#### 4.4 Experimento 4 Efeitos da moxidectina nos níveis hipotalâmicos e estriatais de neurotransmissores e seus metabólitos

Os ratos utilizados neste experimento foram distribuídos em dois grupos: um controle e um experimental, com nove animais cada. Os animais do grupo experimental receberam, por via SC, 0,2 mg/kg de MOX e aqueles do grupo controle 0,1 mL/kg de óleo de amêndoas (SC). Após 72 horas, os ratos foram submetidos à eutanásia por decapitação na fase escura do ciclo CE, em uma sala iluminada com uma lâmpada vermelha de 20 W.

Após a eutanásia, do encéfalo de cada rato foi removido o hipotálamo (área relacionada com o comportamento sexual) e um segmento do estriado (área envolvida com a atividade motora) direito. Ambos tecidos foram colocados separadamente em tubos tipo *ependorf* e diluídos na proporção de 15 vezes para as amostras de hipotálamo e 20 vezes para as de estriado em uma solução de ácido perclórico 0,1 M e processados, conforme descrito no item 3.3.3.

A Tabela 5 e as Figuras 7 e 8 mostram os efeitos da administração de MOX (0,2 mg/kg) nos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos no hipotálamo e no estriado, 72 horas após esse tratamento. Assim, observa-se diminuição nos níveis estriatais de dopamina (DA) e de seu metabólito ácido homovanílico (HVA) e nos níveis hipotalâmicos de GABA de ratos do grupo experimental, em relação aos ratos do grupo controle ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos nos níveis hipotalâmicos e estriatais de DOPAC, na relação HVA/DA, e na DOPAC/DA, nem nos níveis das demais aminas e seus metabólitos, bem como nos níveis de GLU e GLI. O aminoácido aspartato não foi detectado.

Tabela 5 – Efeitos de 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX) nos níveis de neurotransmissores e metabólitos (ng/g de tecido) no hipotálamo e no estriado, 72 h após o tratamento. São apresentadas as médias e respectivos erros padrões. n=9 por grupo.

	Hipotálamo		Estriado	
	Controle	MOX	Controle	MOX
DA	365,20±254,0	448,26±209,74	3511,90±638,91	1537,30±397,69*
HVA	13,30±3,20	10,94±7,87	141,24±24,02	73,20±17,41*
DOPAC	35,0±15,10	43,11±9,51	204,66±39,08	119,04±28,39
HVA/DA	0,057±0,044	0,026±0,018	0,040±0,006	0,058±0,007
DOPAC/DA	0,136±0,068	0,107±0,033	0,006±0,008	0,008±0,010
5-HT	145,40±45,2	146,15±26,43	92,96±22,66	80,22±24,34
5-HIAA	90,40±22,30	84,35±17,85	105,93±26,12	90,64±17,25
5-HIAA/5-HT	0,653±0,041	0,0582±0,026	0,881±0,033	0,889±0,059
NOR	580,40±143,40	472,08±67,53	130,82±59,51	101,28±33,02
GABA	1019,60±164,98	599,00±74,67*	905,50±163,13	778,45±146,55
GLU	1697,30±362,83	2253,80±784,27	1607,10±163,35	1151,90±165,29
GLI	29,25±5,74	22,43±2,83	36,68±6,41	48,50±7,39

\*p<0,05 teste t de Student, em relação ao grupo controle. Dopamina (DA); ácido homovanílico (HVA); ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) serotonina (5-HT); ácido hidroxindolacético (5-HIAA); noradrenalina (NOR); ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA); glutamato (GLU); glicina (GLI).

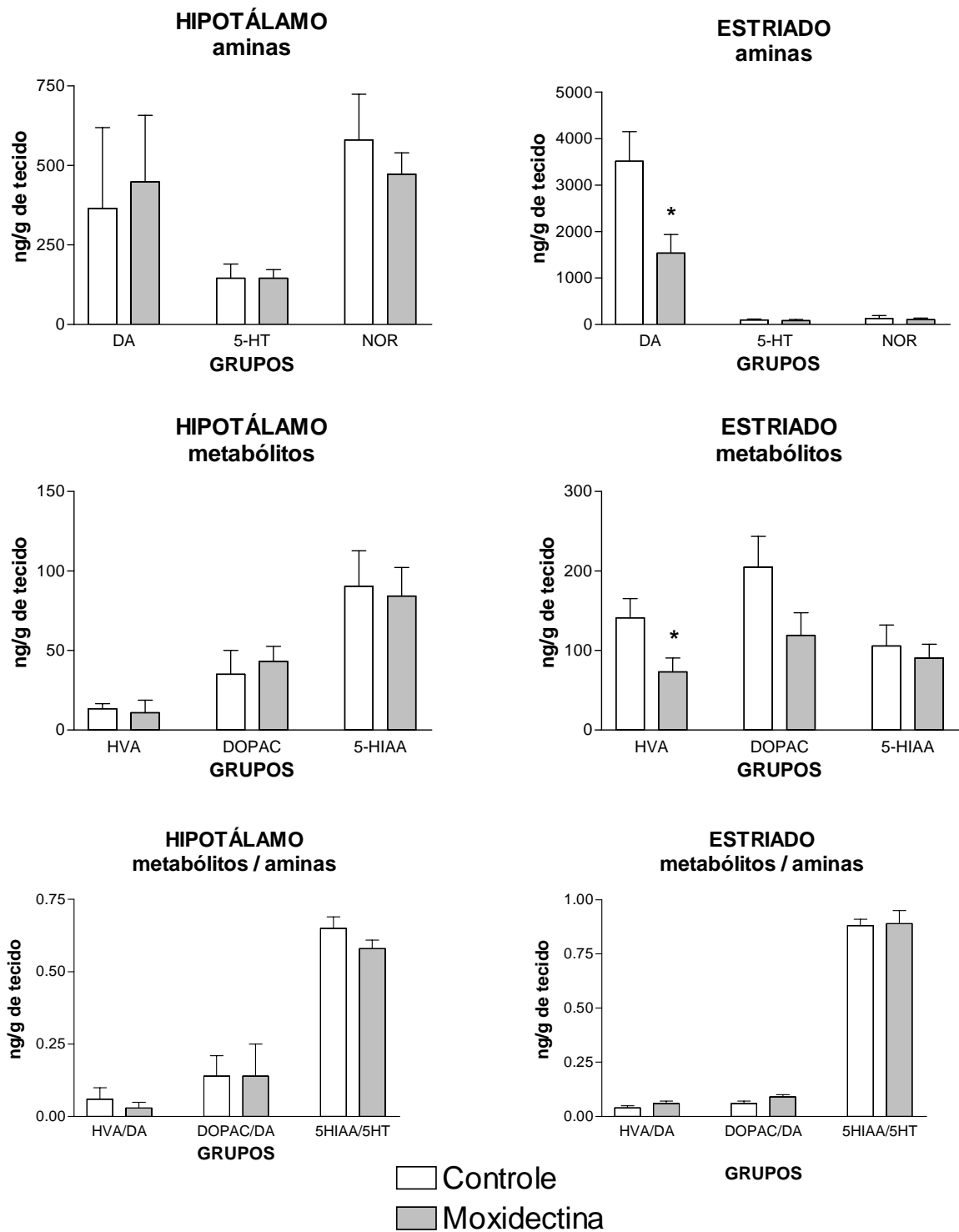


Figura 7 – Efeitos de 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX) nos níveis de neurotransmissores e metabólitos (ng/g de tecido) no hipotálamo e no estriado, 72 h após o tratamento. São apresentadas as médias e respectivos erros padrões. n = 09 por grupo. \*p<0,05 em relação ao grupo controle, teste t de Student. Dopamina (DA), serotonina (5-HT), noradrenalina (NOR); ácido homovanílico (HMA); ácido 3,4-dihidroxiifenilacético (DOPAC); ácido hidroxindolacético (5-HIAA)

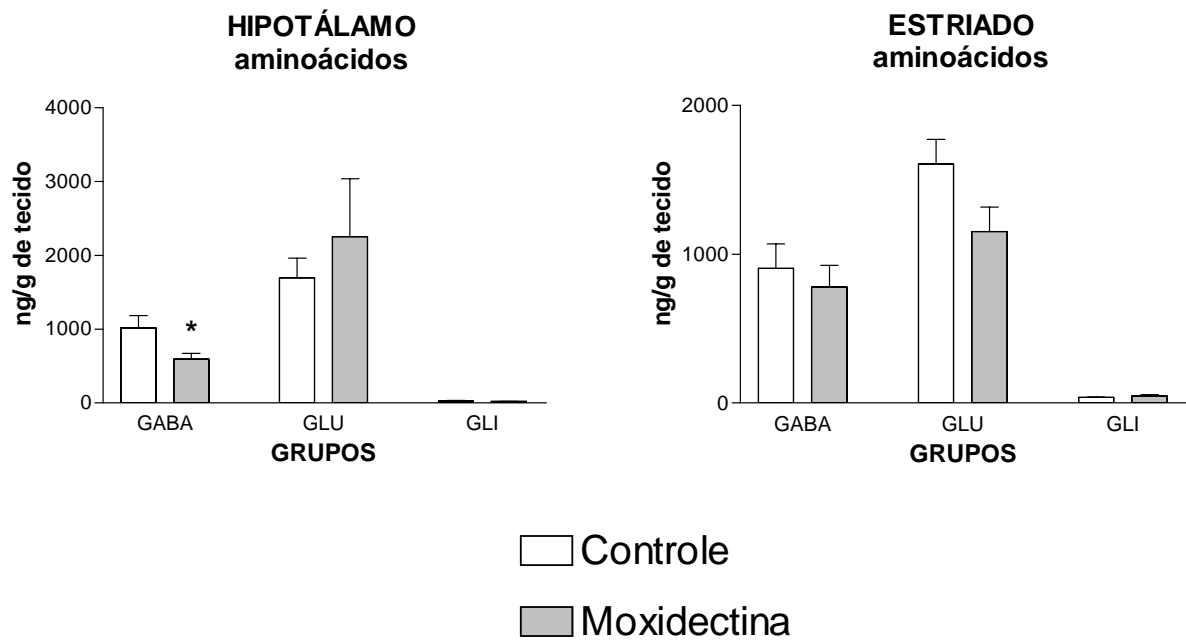


Figura 8 – Efeitos de 0,2 mg/kg de moxidectina (MOX) nos níveis de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), glutamato (GLU) e glicina (GLI) (ng/g de tecido) no hipotálamo e no estriado, 72 h após o tratamento. São apresentadas as médias e respectivos erros padrões. n = 09 por grupo. \*p<0,05 teste t de Student, em relação ao grupo controle.



## 5 DISCUSSÃO

Resultados por nós obtidos anteriormente mostraram que a moxidectina (MOX) prejudicou o comportamento sexual de ratos machos inexperientes. A administração de 0,2 mg/kg de MOX, por via SC, aumentou as latências para primeira monta e intromissão e diminuiu o número total de montas; observou-se também maior intervalo inter-intromissões 72 horas após a administração desta droga (RODRIGUES-ALVES, 2003; RODRIGUES-ALVES et al, 2007). Foi sugerido, então, que o prejuízo do comportamento sexual poderia ser consequência de interferência na motivação sexual.

O método de avaliação do comportamento sexual de macho por nós empregado naquela ocasião não permite a distinção entre motivação sexual (a facilidade pela qual o comportamento é ativado ou libido) da execução dos atos copulatórios (desempenho ou potência) (MEISEL; SACHS, 1994). Estes aspectos do comportamento sexual dependem dos hormônios esteróides que agem no SNC modificando a excitabilidade neuronal em vários sistemas de neurotransmissão e estruturas cerebrais específicas (HULL et al, 1999), como a APOM. E ainda, em relação ao empenho individual, o comportamento sexual não tem finalidade nem propósito outros que sua própria execução. Deve ser ressaltado também que a execução dos reflexos sexuais *per se* pode promover aprendizado, isto é, ele funciona como reforço (AGMO, 1999).

No presente trabalho, para testar a hipótese de que a MOX interferiu na motivação sexual, utilizamos um modelo comportamental desenvolvido para analisar somente este aspecto do comportamento sexual de ratos machos. Sabe-se da literatura que no modelo

aqui empregado, quando os ratos sexualmente inexperientes são expostos ao incentivo sexual (fêmea receptiva) e ao incentivo social (macho), eles optam em ficar mais tempo junto às fêmeas (DAHLGREN; MATUCSZCZYK; HARD, 1991; AGMO, 1999; 2003). Se os incentivos forem fêmea receptiva *versus* fêmea não receptiva, as primeiras serão preferidas; entretanto, quando a alternativa for fêmea não receptiva *versus* macho, nenhuma preferência será observada (AGMO, 2003).

Os dados obtidos mostraram que animais do grupo controle ficaram 2,6 vezes mais tempo e entraram 2,2 vezes mais na ZI da fêmea receptiva do que na ZI do macho experiente; portanto, de acordo com o que foi descrito acima, estes dados validam o modelo comportamental aqui empregado para avaliar a motivação sexual de ratos tratados com MOX.

Por outro lado, nenhuma diferença significativa foi observada entre a motivação sexual dos ratos do grupo experimental (tratados com MOX) e aquela dos animais do grupo controle, indicando que o prejuízo do comportamento sexual não pode ser atribuído a aspectos de motivação (Tab. 2 e Fig. 4).

A segunda hipótese que pode explicar a interferência da MOX no comportamento sexual são os efeitos desta na atividade motora. Estudos prévios feitos por nós também mostraram que o tratamento com MOX induziu incoordenação motora nos ratos testados na trave elevada, mas não no teste do campo aberto (RODRIGUES-ALVES, 2003).

Para testar o efeito da MOX no desempenho sexual, utilizou-se o teste de ereção peniana (EP) induzida por apomorfina. Esta droga é um agonista não seletivo de receptores dopaminérgicos, com maior atividade em receptores do tipo 2 do que do tipo 1 (D2>D1), e em baixas doses induz repetidos episódios de bocejo, EP e limpeza dos genitais em ratos (SERRA et al, 1982; MELIS; ARGIOLAS, 2002). Nossos dados mostraram que a MOX reduziu a latência e a frequência de EP induzida por apomorfina (Tab. 3 e Fig. 5), indicando que o prejuízo do comportamento sexual, anteriormente observado por nós

(RODRIGUES-ALVES, 2003), ocorreu em consequência da interferência na consumação deste comportamento. Provavelmente a falta de efeito no teste de motivação sexual avaliada no presente trabalho e a redução no número total de montas e aumento das latências para 1ª monta e 1ª intromissão observadas nos experimentos anteriores (RODRIGUES-ALVES, 2003, RODRIGUES-ALVES et al, 2007) podem ser explicadas pela redução no processo de EP dos ratos.

Como exposto anteriormente a MOX exerce seu efeito em receptores GABAérgicos (CASIDA, 1993; SHOOP; MROZIK; FISHER, 1995), e apesar do GABA ser o principal neurotransmissor inibitório presente no cérebro, o estudo de seu papel no controle da EP e comportamento sexual torna-se mais complexo pelos efeitos frequentemente dramáticos de drogas GABAérgicas no comportamento motor e vigília (HOBBS; RALL; VERDOON, 1996; ARGIOLAS; MELIS, 2005).

Meisel e Sachs (1994) também chamam atenção para o fato de que déficits no desempenho copulatório podem resultar de tratamentos fisiológicos que prejudicam a locomoção ou outros movimentos de coordenação, porém não exercem nenhum efeito na função erétil. A MOX prejudicou a coordenação motora de ratos observados na trave elevada<sup>1</sup> (RODRIGUES-ALVES, 2003), porém, também mostrou efeito no comportamento sexual, prejudicando a parte motora deste, isto é, os mecanismos de EP.

A MOX liga-se com alta afinidade aos canais de cloro controlados por GABA (DUCE, SCOTT, 1985; DAWSON et al., 2000), isto é, esta droga tem ação em receptores GABAérgicos do tipo A (GABA<sub>A</sub>) (NJUE et al., 2004; RODRIGUES-ALVES et al., 2007), é provável, portanto que a MOX tenha prejudicado a EP agindo em receptores GABA<sub>A</sub>.

---

<sup>1</sup> RODRIGUES-ALVES, P. S. B.; LEBRUN, I.; FLORIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Moxidectin interference on motor activity of rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology** (no prelo).

Corroborando nossos dados, vários estudos também mostraram que a administração sistêmica de diversas drogas GABAérgicas reduzem o comportamento sexual (GUPTA; SHAPIRO; YAFFE, 1980; FERNÁNDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986a; 1986b; AGMO; PAREDES; FERNÁNDEZ, 1987; RHEES; SHRYNE; GORSKI, 1990; RODRIGUES-ALVES et al, 2007). Enquanto, injeções sistêmicas de bicuculina, um antagonista GABA<sub>A</sub>, não afeta nenhum parâmetro do comportamento sexual (FERNÁNDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986b).

Uma possível explicação encontra-se no fato de que os receptores GABA são heterogêneos (FERNÁNDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986a; BOWERY, 1989; RITTA; CAMPOS; CALANDRA, 1991; BONANNO; RAITERI, 1993; BARNARD, 1995; MÖHLER et al, 1995). Isto é, os receptores GABA<sub>A</sub> são ativados pelo GABA e alguns agonistas e são bloqueados pela bicuculina e picrotoxina (MACDONALD; BARKER, 1978; HAEFELY, 1983). Enquanto, os receptores GABA<sub>B</sub> também são ativados pelo GABA, mas não pela maioria dos compostos GABAmiméticos, e não são afetados pela bicuculina (HAEFELY, 1983; FERNÁNDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986b). Estes dados sugerem que a inibição do comportamento sexual pelo GABA é mediado pela ativação dos receptores GABA<sub>B</sub>; entretanto os receptores GABA<sub>A</sub>, presentes na APOM, podem também ser importantes nesta inibição, desde que sua ativação é necessária para a completa manifestação deste efeito inibitório do GABA (FUXE et al, 1975; RITTA; CALANDRA, 1986; BITRAN; HULL, 1987).

Leipheimer e Sachs (1988) comentam sobre o envolvimento dos receptores GABA<sub>B</sub> na regulação dos reflexos penianos e copulação em ratos (testes *ex copula*); o mesmo fato foi proposto por Bitran et al (1989). Dorfman, Vega e Coirini (2006) também reportaram que receptores GABA<sub>B</sub> tem um papel crítico no controle da função erétil.

Por outro lado, Melis et al (2000) estudaram o efeito do muscimol (agonista GABA<sub>A</sub>) e baclofen (agonista GABA<sub>B</sub>) injetados nos núcleos para-ventriculares do hipotálamo, na EP e bocejo induzidos pela apomorfina, oxitocina e NMDA em ratos machos. O muscimol, e não o baclofen reduziu a EP. O antagonista GABA<sub>A</sub> bicuculina (250 ng) injetado no núcleo paraventricular cinco minutos antes do muscimol (100 ng) preveniu o efeito inibitório do agonista GABA<sub>A</sub> na EP induzida. Estes resultados mostram que o GABA inibe a EP pela ação em receptores GABA<sub>A</sub> dos núcleos paraventriculares do hipotálamo. Esta redução da EP foi paralela a uma redução concomitante do aumento NO<sub>2</sub>- e NO<sub>3</sub>- que ocorre no dialisato do núcleo paraventricular nestas condições experimentais; estes efeitos são prevenidos pela administração prévia de bicuculina, porém baclofen é ineficaz. Ainda, Melis e Argiolas, em 2002, mostraram que a ativação dos receptores GABA<sub>A</sub> dos núcleos paraventriculares reduzem a EP, induzida por drogas ou estímulo fisiológico, devido a redução da atividade da óxido nítrico-sintase nos neurônios oxitocinérgicos que medeiam a EP, portanto os receptores GABA<sub>A</sub> também estão envolvidos com o controle da EP (ARGIOLAS; MELIS, 2005).

No entanto, Zarrindast e Farahvast (1994) sugeriram que a administração de agonistas de receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> inibe a EP induzida por apomorfina através de mecanismos dopaminérgicos. Em estudos da resposta de EP induzida por apomorfina (0,1 – 0,5 mg/kg) em animais pré-tratados com o agonista GABA<sub>A</sub> muscimol ou o agonista GABA<sub>B</sub> baclofen, estes autores observaram que a combinação de muscimol e baclofen causou um efeito inibitório intenso na EP induzida por apomorfina. A bicuculina ou a picrotoxina, mas não o baclofen, reduziu o efeito inibitório do muscimol, enquanto o baclofen, mas não os antagonistas GABA<sub>A</sub>, diminuiu a ação inibitória do baclofen na EP induzida por apomorfina. O pré-tratamento dos ratos com altas doses de antagonistas GABA<sub>A</sub>, bicuculina e picrotoxina ou do antagonista GABA<sub>B</sub>, baclofen, bloquearam a inibição da EP induzida por apomorfina.

Andersen e Tufik (2004) também investigaram os efeitos de drogas GABAérgicas nos reflexos genitais espontâneos induzidos por cocaína em ratos machos privados de sono paradoxal. A administração de muscimol reduziu o número de animais que apresentaram EP, enquanto todas as doses testadas deste agonista GABA<sub>A</sub> e de bicuculina reduziram significativamente a frequência de EP. Pré-tratamento com baixas doses do antagonista GABA<sub>B</sub>, faclofen, também reduziu significativamente a porcentagem de ratos que apresentaram EP; entretanto, após a injeção de dose mais alta, a proporção de animais com EP foi similar àquela observada após pré-tratamento com veículo (ratos controle). Ambos agonista e antagonista GABA<sub>B</sub> reduziram significativamente a frequência de EP para todas as doses usadas comparado ao grupo veículo. Estes autores sugeriram que a manipulação do sistema GABAérgicos inibe a EP em ratos com privação de sono paradoxal, e que esta inibição aponta para um papel diferencial dos subtipos de receptores GABAérgicos.

O bloqueio da transmissão GABAérgica em sítios de receptores GABA<sub>A</sub> na APOM facilita o início do comportamento copulatório seguido da ejaculação, bem como a recuperação do comportamento sexual em animais castrados após a administração de testosterona (FERNÁNDEZ-GUASTI; LARSSON; BEYER, 1986a; 1986b; FERNÁNDEZ-GUASTI; RÓLDAN-RÓLDAN; SADÍVAR, 1990).

Silva et al (1998) estudaram os efeitos de diferentes doses de picrotoxina (antagonista GABA<sub>A</sub>) administrado em dose única, no comportamento sexual de ratos machos. A menor dose (0,5 mg/kg) desta droga não alterou os parâmetros avaliados do comportamento sexual, enquanto que a dose média (0,75 mg/kg) facilitou este comportamento, sendo observado diminuição das latências para primeiras monta, intromissão e ejaculação. Doses mais altas de picrotoxina (1,5 e 2,0 mg/kg) aumentaram as latências para primeiras monta e intromissão e reduziram o número de montas e intromissões e o total do número de montas. Nenhuma das doses de picrotoxina modificou significativamente a

freqüência de montas e a eficiência copulatória. O índice de atividade sexual diminuiu após a administração de 1,5 e 2,0 mg/kg de picrotoxina. Foi sugerido que o efeito inibitório das doses maiores de picrotoxina no comportamento sexual de machos pode ser consequência de uma interferência da droga com a função motora e/ou influência do estresse induzido pela picrotoxina.

Do exposto acima, observamos que dependendo da dose empregada, drogas GABAérgicas interferem distintamente nos parâmetros sexuais. E a discrepância que ocorre nos resultados destes diversos experimentos, pode ser devida às diferenças nas condições experimentais usadas, isto é, drogas GABAérgicas administradas por vias sistêmicas *versus* drogas GABAérgicas administradas em áreas do SNC (como exemplo: NPV, APOM, etc.). De fato, agonistas de receptores GABA administrados sistemicamente freqüentemente induzem forte sedação que causa distúrbios motores severos, fazendo com que seja impossível evidenciar o papel específico do GABA nas respostas estudadas. Ainda, drogas GABAérgicas administradas sistemicamente alcançam todas as estruturas cerebrais, e o efeito observado é a soma algébrica das ações induzidas por estes compostos em todos os sítios alcançados. Em particular estimulação GABAérgica de receptores GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub> podem produzir diferentes efeitos, isto é, inibitório ou excitatório, na EP, dependendo da área cerebral na qual elas agem (MELIS; ARGIOLAS, 2002).

Considerando que a MOX age em canais de cloro GABA dependentes e que os subtipos de receptores GABAérgicos, GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub>, podem estar envolvidos no controle da EP, no presente trabalho avaliamos também os efeitos de antagonistas GABAérgicos na EP de ratos tratados com MOX. As doses de bicuculina (antagonista GABA<sub>A</sub>) e faclofen (antagonista GABA<sub>B</sub>), e o intervalo de tempo entre a administração destes antagonistas e da apomorfina foram baseadas em trabalho prévio (ZARRINDAST; FARAHVASH, 1994).

Utilizando bicuculina e faclofen em ratos tratados com MOX observamos que os antagonistas GABAérgicos, por si só, não foram capazes de causar nenhuma alteração nos parâmetros da EP. Já a administração de MOX reduziu a frequência de EP e aumentou a latência para 1ª EP e quando administrada associada ao antagonista GABA<sub>A</sub>, bicuculina, observou-se a reversão destes efeitos. Estes dados sugerem que a dose terapêutica de MOX prejudicou o desempenho sexual por ação em receptores GABA<sub>A</sub> (Tab. 4; Fig. 6).

Diversos autores reportaram que os receptores GABA<sub>B</sub> tem um papel crítico no controle da função erétil (BITRAN et al, 1989; LEIPHEIMER, SACHS, 1988; DORFMAN; VEJA; COIRINI, 2006) e que a inibição do comportamento sexual pelo GABA é mediado pela ativação dos receptores GABA<sub>B</sub> (FUXE et al, 1975; RITTA; CALANDRA, 1986; BITRAN; HULL, 1987). Leipheimer e Sachs (1988) sugerem também que o papel inibitório do GABA na expressão dos reflexos penianos em testes *ex copula* é mediado especificamente por receptores GABA<sub>B</sub>.

Sabe-se também que os receptores GABA<sub>B</sub> estão localizados principalmente nas terminações pré-sinápticas, e pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G e atuam através de segundos mensageiros intracelulares. Estes receptores promovem um aumento da condutância do K<sup>+</sup> (causando hiperpolarização da membrana) e inibição dos canais de Ca<sup>2+</sup> voltagem-sensíveis, levando à inibição da liberação do neurotransmissor (RANG; DALE, 1993).

E ainda, a transecção medular acima do nível lombar aumenta tanto a frequência como a intensidade das ereções penianas o que indica que centros cerebrais superiores inibem tonicamente a expressão de respostas penianas (AGMO; PAREDES, 1985; HART, 1968; SACHS; GARINELLO, 1979; 1980) e o GABA pode estar envolvido na mediação desta inibição. Os neurônios GABAérgicos inibem os aferentes sensoriais primários na medula espinhal e agem nas células pós-sinápticas para inibir a excitabilidade neuronal.



Tem sido mostrado também que o GABA exerce efeito inibitório nos sistemas nervosos periféricos, como nos neurônios de ambos os gânglios parassimpático e simpático, e em células da musculatura lisa do intestino, do oviducto, e dos vasos sanguíneos (BAETGE; GERSHON, 1986; ERDÖ, 1985). Baclofen administrado por via sistêmica provavelmente exerce seu efeito em sítios periféricos e centrais que influenciam as respostas penianas (LEIPHEIMER; SACHS, 1988).

Dados obtidos por Bitran et al. (1989) suportam a hipótese de que atividade em sinapses GABAérgicas na medula espinhal lombosacra, e a estimulação de receptores GABA<sub>B</sub> em particular, inibe a expressão dos reflexos penianos eliciados *ex copula*. Estes autores sugerem também que o déficit nas respostas eréteis promovido pela administração do baclofen na medula espinhal lombosacra pode resultar da inibição de: 1- estimulação aferente do pênis; 2- eferentes motores somáticos mediando a contração dos músculos perineais; 3- eferente motor visceral que medeiam mecanismos da vasculatura peniana; estas alternativas porém, não são mutuamente exclusivas.

Corroborando estes dados da literatura com o resultado obtido no presente trabalho, onde a associação de MOX e baclofen promoveu um aumento na frequência de EP (Tab. 4 e Fig. 6), sugerimos que tanto receptores GABA<sub>A</sub> quanto os receptores GABA<sub>B</sub> atuam nos mecanismos de controle da EP. Provavelmente os receptores GABA<sub>A</sub> atuam via receptores GABA<sub>B</sub>, uma vez que efeito inibitório da EP por ação da MOX em receptores GABA<sub>A</sub> não ocorreu quando os receptores GABA<sub>B</sub> estavam bloqueados pelo antagonista baclofen. Sugerimos também que o aumento da frequência de EP ocorreu pela ação do agonista apomorfina nas vias dopaminérgicas, na ausência da inibição GABAérgica.

Os núcleos paraventriculares do hipotálamo são um centro de integração entre o sistema nervoso central e o sistema autônomo periférico (ARGIOLAS; MELIS, 2005). Eles estão envolvidos em numerosas funções desde alimentação, balanço metabólico, pressão

sanguínea e ritmo cardíaco, a função erétil e comportamento sexual. Em particular, um grupo de neurônios oxitocinérgicos que se originam nestes núcleos e se projetam para áreas cerebrais extra-hipotalâmicas (por exemplo: hipocampo, bulbo raquidiano e medula espinhal) controlam a EP de ratos. Ativação destes neurônios por dopamina e seus agonistas, aminoácidos excitatórios (ácido N-metil-D-aspartato ou NMDA) ou a própria oxitocina, ou por estimulação elétrica, leva à EP. Por outro lado, a inibição dos neurônios oxitocinérgicos pelo GABA e seus agonistas ou por peptídeos opióides e drogas semelhantes aos opiáceos inibem esta resposta sexual. A ativação destes neurônios é secundária à ativação da enzima óxido nítrico-sintase, a qual produz óxido nítrico (NO). E ainda, neurônios do corno dorsal da medula espinhal lombo-sacra inervam os vasos e regulam a EP (DORFMAN; VEGA; COIRINI, 2006).

No presente trabalho optamos por dosar os níveis de neurotransmissores no hipotálamo e no estriado, pois estas áreas do sistema nervoso central estão envolvidas no controle do comportamento sexual e motor, respectivamente. De fato, enquanto o sistema nigro-estriatal é necessário para o controle da coordenação sensório-motora requerida para copulação, o sistema mesolímbico-mesocortical tem um papel chave na fase preparatória do comportamento sexual, principalmente na provocação sexual, motivação e, possivelmente, reforço (MELIS; ARGIOLAS, 1995). Contrariamente, o sistema incerto-hipotalâmico tem sua maior função na consumação do comportamento sexual, principalmente na emissão seminal e desempenho erétil, mas também existe evidência de seu envolvimento na motivação sexual (MELIS; ARGIOLAS, 1995).

O GABA exerce efeito inibitório em terminações nervosas pré-sinápticas em vários locais do cérebro e sistema nervoso periférico, como as terminações que liberam dopamina no estriado e terminações simpáticas periféricas (RANG; DALE, 1993).

Está bem estabelecido também que a maioria dos interneurônios localizados no estriado é GABAérgica. O padrão de gatilho dos neurônios nigro-dopaminérgicos são modulados diferentemente pela desinibição dos impulsos de GABA<sub>A</sub> originários da substância nigra *pars reticulata* (SNr) e desinibição dos impulsos GABAérgicos do núcleo pálido (substância nigra) mediados pelo receptor GABA<sub>B</sub> (TEPPER; MARTIN; ANDERSON, 1995).

E ainda, como comentado anteriormente, os neurônios da SNr de ratos têm pouca sensibilidade ao GLU e esparsos receptores deste, porém, têm uma das maiores densidades de receptores GABAérgicos do cérebro (WINDELS; KIYATKIN, 2006).

No estriado é bem conhecido também o balanço dopaminérgico/colinérgico e a participação de inter-neurônios GABAérgicos modulando a ação de neurônios dopaminérgicos, isto é, a estimulação de receptores GABAérgicos tem efeito inibidor sobre o sistema dopaminérgico estriatal. De fato, os dados neuroquímicos dos níveis estriatais de aminoácidos e aminas, obtidos no presente trabalho, mostraram redução dos níveis de DA e seu metabólito HVA (Tab. 5 e Fig. 7), a redução dos níveis desta amina e de seu metabólito pode ser atribuída, portanto, a ação da MOX sobre o sistema dopaminérgico, via ativação do sistema GABAérgico.

A ação de drogas GABAérgicas no sistema nervoso promove aumento dos níveis de GABA (RODRIGUES-ALVES, et al., 2007), porém, nossos dados mostraram que no hipotálamo a MOX promoveu redução dos níveis deste neurotransmissor (Tab. 5 e Fig. 8), provavelmente este resultado é devido ao fato da dosagem neuroquímica ter sido realizada 72 h após a administração da MOX. Sugerimos, portanto, que esta droga promoveu a liberação de GABA, levando à redução dos níveis deste neurotransmissor, no momento da dosagem, sem causar qualquer alteração nos níveis dos demais neurotransmissores.



## 6 CONCLUSÃO

A Moxidectina na dose terapêutica (0,2 mg/kg):

- ✓ não interferiu na motivação sexual;
- ✓ prejudicou a ereção peniana induzida por apomorfina; sendo este efeito revertido pela bicuculina;
- ✓ quando associada ao faclofen promoveu aumento da frequência de EP, pois o prejuízo da EP pela ação da MOX em receptores GABA<sub>A</sub>, provavelmente ocorre via receptores GABA<sub>B</sub>;
- ✓ reduziu os níveis hipotalâmicos de GABA e os níveis estriatais de DA e HVA.

Os dados apresentados no presente trabalho sugerem que a MOX pode interferir no comportamento sexual, agindo em receptores GABA<sub>A</sub> presentes no hipotálamo como naqueles do estriado.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

AGMO, A. Male rat sexual behavior (protocol). **Brain Research Protocols**, v. 1, p. 203-209, 1997.

AGMO, A. Sexual motivation – an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 105, p. 129-150, 1999.

AGMO, A. Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat (*Rattus norvegicus*). **Journal of Comparative Psychology**, v. 117, n. 1, p. 3-14, 2003.

AGMO, A.; GIORDANO, M. The locomotor-reducing effects of GABAergic drugs do not depend on the GABAA receptor. **Psychopharmacology**, v. 87, p. 51-54, 1985.

AGMO, A.; PAREDES, R. GABAergic drugs and sexual behavior in the male rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 112, p. 371-378, 1985.

AGMO, A.; PAREDES, R.; FERNANDEZ, H. Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotion activity, and motor execution in male rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 28, p. 47-52, 1987.

ALAKUIJALA, A.; ALAKUIJALA, J.; PASTERNAK, M. Evidence for a functional role of GABA<sub>C</sub> receptors in the rat mature hippocampus. **European journal of Neuroscience**, v. 23, p. 514-520, 2006.

---

<sup>1</sup> De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NDR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ANDERSEN, M. L.; TUFIK, S. Inhibitory effect of GABAergic drugs in cocaine-induced genital reflexes in paradoxical sleep-deprived male rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 78, n. 2, p. 301-307, 2004.

ANDERSSON, K. E. Pharmacology of penile erection. **Pharmacological Reviews**, v. 53; p. 417-450, 2001

ANDERSSON, K. E.; WAGNER, G. Physiology of erection. **Physiological Reviews**, v. 75, p. 191-236, 1995.

ARENA, J.P. Expression of *Caenorhabditis elegans* mRNA in *Xenopus* oocytes: a model system to study the mechanism of action of avermectins. **Parasitology Today**, v. 10, p. 35-37, 1994.

ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R. Neuromodulation of penile erection: an overview of the role of neurotransmitters and neuropeptides. **Progress in Neurobiology**, v. 47, n. 4-5, p. 235-255, 1995.

ARGIOLAS, A.; MELIS, M. R. Central control of penile erection: role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Progress in Neurobiology**, v. 76, n. 1, p. 1-21, 2005.

AYRES, M. C. C.; ALMEIDA, M. A. O. Agentes Antinematódeos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 483-486.

BAETGE, G.; GERSHON, M. GABA in the PNS? Demonstration in enteric neurons. **Brain Research Bulletin**, v. 16, p. 421-424, 1986.

BARNARD, E. A. The molecular biology of GABAA receptors and their structural determinants. **Advances in Biochemical Psychopharmacology**, v. 48, p. 1-16, 1995.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. Sistemas de neurotransmissores. In: \_\_\_\_\_ **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2.ed. Rio Grande do Sul: Artmed, 2002. p. 130-162.

BITRAN, D.; HULL, E. M. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 11, p. 365-389, 1987.

BITRAN, D.; MILLER, S. A.; MCQUADE, D. B.; LEIPHEIMER, R. E.; SACHS, B. D. Inhibition of sexual reflexes by lumbosacral injection of a GABA<sub>B</sub> agonist in the male rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 31, n. 3, p. 657-666, 1989.

BONANNO, G.; RAITERI, M. gamma-Aminobutyric acid (GABA) autoreceptors in rat cerebral cortex and spinal cord represent pharmacologically distinct subtypes of the GABA<sub>B</sub> receptor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 256, n. 2, p. 765-770, 1993.

BORMAN, J. The 'ABC' of GABA receptors. **Trends in Neuroscience**, v. 21, p. 16-19, 2000.

BORMAN, J.; FEIGENSPAN, A. GABA<sub>C</sub> receptors. **Trends in Neurosciences**, v. 18, p. 515-519, 1995.

BOUE-GRABOT, E.; ROUDBARAKI, M.; BASCLES, L.; TRAMU, G.; BLOCH, B.; GARRET, M. Expression of GABA<sub>C</sub> receptor rho subunits in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 70, p. 899-907, 1998.

BOUE-GRABOT, E.; TAUPIGNON, A.; TRAMU, G.; GARRET, M. Molecular and electrophysiological evidence for a GABA<sub>C</sub> receptor in thyrotropin-secreting cells. **Endocrinology**, v. 141, p. 1627-1633, 2000.

BOWERY, N. G. GABA<sub>B</sub> receptors and their significance at mammalian pharmacology. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 10, p. 401-407, 1989.

BOWERY, N. G.; HILL, D. R.; HUDSON, A. L. Characteristics of GABA<sub>B</sub> receptor binding sites on rat whole brain synaptic membranes. **British Journal of Pharmacology**, v. 78, p. 191-206, 1983.

BURG, R. W.; MILLER, B. M.; BAKER, E. F.; BIRNBAUM, J.; CURRIE, S. A.; HARTMAN, R.; KONG, Y. L.; MONAGHAN, R. L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J. B.; WALLICK, H.; STAPLEY, E. O.; OIWA, R.; OMURA, S. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 15, p. 361-367, 1979.

CASIDA, J. E. Insecticide action at the GABA-gated chloride channel: recognition, progress, and prospects. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 1-2, p. 13-23, 1993.



CHEBIB, M; HANRAHAN, J. R.; KUMAR, R. J.; MEWETT, K. N.; MORRISS, G.; WOOLLER, S.; JOHNSTON, G. A. R. (3-Aminocyclopentyl) methylphosphinic acids: novel GABA<sub>C</sub> receptor antagonists. **Neuropharmacology**, v. 52, p. 779-787, 2007.

CHEBIB, M; JOHNSTON, G. A. R. The 'ABC' of GABA receptors: a brief review. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 26, p. 937-940, 1999.

CHEBIB, M; JOHNSTON, G. A. R. GABA<sub>C</sub> activated ion channels: medicinal chemistry and molecular biology. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1427-1447, 2000.

CLELAND, T. A. Inhibitory glutamate receptor channels. **Molecular Neurobiology**, v. 13, p. 97-136, 1996.

COURTNEY, C. H.; ROBERTSON, E. L. Chemotherapy of parasitic diseases. In: ADAMS, H.R. (Ed.). **Veterinary pharmacology and therapeutic**. 7. ed. Ames: Iowa State University Press, 1995. p. 923-924.

CRYAN, J. F.; KAUPMANN, K. Don't worry 'B' happy!: a role for GABA<sub>B</sub> receptors in anxiety and depression. **Trends in Pharmacology Science**, v. 26, p. 36-43, 2005.

CULLY, D. F.; WILKINSON, H.; VASSILATIS, D. K.; ETTER, A.; ARENA, J. P. Molecular biology and electrophysiology of glutamate-gated chloride channels of invertebrates. **Parasitology**, v. 113, p. 191-200, Sup, 1996.

DAHLGREN, I. L.; MATUCSZCZYK, J. V.; HARD, E. Sexual orientation in male pregnant rats prenatally exposed to ethanol. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 13, p. 267-269, 1991.

DAVIDOFF, R. A.; HACKMAN, J. C. GABA: presynaptic actions In: ROGAWSKI, M. A.; BARKER, J. L. **Neurotransmitter actions in vertebrate nervous system**. New York: Plenum Press, 1985.

DAWSON, G. R.; WAFFORD, K. A.; SMITH, A.; MARSHALL, G. R.; BAYLEY, P. J.; SCHAEFFER, J. M.; MEINKE, P. T.; MCKERNAN, R. M. Anticonvulsant and adverse effects of avermectin analogs in mice are mediated through the  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> receptor. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 295, n. 3, p. 1051-1160, 2000.

DORFMAN, V. B.; VEGA, M. C.; COIRINI, H. Age-related changes of the GABA-B receptor in the lumbar spinal cord of male rats and penile erection. **Life Science**, v. 78, n. 14, p. 1529-34, 2006.

DUCE, I. R.; SCOTT, R. H. Actions of hydroavermectin B<sub>1a</sub> on insect muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 85, p. 395-401, 1985.

DUKE, R. K.; CHEBIB, M.; ALLAN, R. D.; MEWETT, K. N.; JOHNSTON, G. A. R. (+)- and (-)-CAMP (*cis*-2-aminomethylcyclopropanecarboxylic acid), show opposite pharmacology at recombinant  $\rho$ 1 and  $\rho$ 2 GABAC receptors. **Journal of Neurochemistry**, v. 75, p. 2602-2610, 2000.

ELIASSON, M.; MEYERSON, B. Development of sociosexual approach behavior in male laboratory rats. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 95, p. 160-165, 1981.

ENZ, R.; BRANDSTATTER, J. H.; HARTVEIT, E.; WASSLE, H.; BORMANN, J. Expression of GABA receptor rho 1 and rho 2 subunits in the retina and brain of rat. **European Journal of Neuroscience**, v. 7, p. 1495-1501, 1995.

ENZ, R.; CUTTING, G. R. Molecular composition of GABA<sub>C</sub> receptors. **Vision Research**, v. 38, p. 1431-1441, 1998.

ERDÖ, S. L. Peripheral GABAergic mechanisms. **Trends in Pharmacology Science**, v. 5, p. 205-208, 1985.

FELÍCIO, L. F.; FLÓRIO, J. C.; SIDER, L. H.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; BRIDGES, R. S. Reproductive experience increases striatal and hypothalamic dopamine levels in pregnant rats. **Brain Research Bulletin**, v. 40, p. 253-256, 1996.

FENG, X.P.; HAYASHI, J.; BEECH, R. N.; PRICHARD, R. K. Study of the nematode putative GABA type-A receptor subunits: evidence for modulation by ivermectin. **Journal of Neurochemistry**, v. 83, p. 870-878, 2002.

FERNANDEZ-GUASTI, A.; LARSSON, K.; BEYER, C. Comparison of effects of different isomers of bicuculline infused in the preoptic area on male sexual behavior. **Experientia**, v. 41, p. 1414-1416, 1985.

FERNANDEZ-GUASTI, A.; LARSSON, K.; BEYER, C. Effect of bicuculline on sexual activity in castrated male rats. **Physiology and Behavior**, v. 36, p. 235-237, 1986a.

FERNANDEZ-GUASTI, A.; LARSSON, K.; BEYER, C. GABAergic control of masculine sexual behavior. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 24, p. 1065-1070, 1986b.

FERNANDEZ-GUASTI, A.; LARSSON, K.; VEGA-SANABRIA, J. Depression of postejaculatory ultrasonic vocalization by (+) bicuculline. **Behavior Brain Research**, v. 19, p. 35-39, 1986.

FERNANDEZ-GUASTI, A.; RÓLDAN-RÓLDAN, G.; SALDÍVAR, A. Pharmacological manipulations of anxiety and male rat sexual behavior. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 35, p. 263-267, 1990.

FUXE, K.; AGNATALI, L. F.; BOLME, P.; HÖKFELT, T.; LIDBRINK, P.; LJUNGDAHL, A.; PEREZ DE LA MORA, M.; OGREN, S. The possible involvement of GABA mechanisms in the action of benzodiazepines on central catecholamine neurons. **Advances in Biochemical Psychopharmacology**, v. 14, p. 45-61, 1975.

GRAF PAD INSTAT tm Copyright © GraphPad software. Version 2.01.

GUPTA, C.; SHAPIRO, B. H.; YAFFE, S. J. Reproductive dysfunction in male rats following prenatal exposure to Phenobarbital. **Pediatric Pharmacology**, v. 1, p. 55-62, 1980.

HAEFELY, W. Antagonists of benzodiazepines: functional aspects. **Advances in Biochemical Psychopharmacology**, v. 38, p. 73-93, 1983.

HAJOS, M.; GREENFIELD, S. A. Topographic heterogeneity of substantia nigra neurons: diversity in intrinsic membrane properties and synaptic inputs. **Neuroscience**, v. 55, p. 919-934, 1993.

HART, B. L. Sexual reflexes and mating behavior in the male rat. **Journal of Comparative Physiology and Psychology**, v. 65, p. 453-460, 1968.

HEINRIKSON, R. L.; MEREDITH, S. C. Amino acid analysis by reverse-phase high performance liquid chromatography: precolumn derivatization with phenylisothiocyanate. **Analytical Biochemistry**, v. 136, n. 1, p. 65-74, 1984.

HENDERSON, I. F.; HENDERSON, W. D. A dictionary of scientific and technical terms. New York: McGraw-Hill, 2003. Disponível em: < <http://www.accessscience.com> >.

HENDERSON, I. F.; HENDERSON, W. D. Encyclopedia of science and technology. New York: McGraw-Hill, 2005. Disponível em: < <http://www.accessscience.com>>.

HILL, D. R.; BOWERY, N. G. Tritium-labelled baclofen and tritium-labelled  $\gamma$ -aminobutyric acid bind to bicuculline-insensitive GABA<sub>B</sub> sites in rat brain. **Nature**, v. 290, p. 149-152, 1981.

HOBBS, W. R.; RALL, T. W.; VERDOON, T. A. Hypnotics and sedatives: ethanol. In: MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W. (Ed.). **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. New York: McGraw-Hill Companies Inc., 1996. p. 361-396.

HULL E. M.; LORRAIN D. S.; DU J.; MATUSZEWICH L.; LUMLEY L.A.; PUTNAM S.K.; MOSES J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. **Brain Behavior Research**, v. 105, n. 1, p. 105-116, 1999.

JANSEN, A.; HOEPFER, M.; HERZIG, K. H.; REICKEN, E. O.; SCHERUBL, H. Gabac receptors in neuroendocrine gut cell: a new GABA-binding site in the gut. **Pflugers Archives. European Journal of Physiology**, v. 441, p. 294-300, 2000.

JOHNSTON G. A. R. GABA<sub>C</sub> receptors: relatively simple transmitter-gated ions-channels? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 17, p. 319-323, 1996.

JOINT FAO / WHO Expert Committee on Food Additives, 45ed., Geneva, SW: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Geneva, 1995. p. 15-21. (WHO technical report series, 864).

KHAN, S. A.; KUSTER, D. A.; HANSEN, S. R. A review of moxidectin overdose cases in equines from 1998 through 2000. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 44, n. 4, p.232-235, 2002.

KUSAMA, T.; SPIVAK, C. E.; WHITING, P.; DAWSON, V. L.; SCHAEFFER, J. C.; UHL, G. R. Pharmacology of GABA  $\rho$ 1 and GABA  $\alpha/\beta$  receptors expressed in *Xenopus* oocytes and COS cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 109, p. 200-206, 1993.

LANUSSE, C.; LIFSCHITZ A., VIRKEL, G., ALVAREZ, L., SÁNCHEZ, S., SUTRA, J. F., GALTIER, P., ALVINERIE, M. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 2, p. 91-99, 1997.

LEIPHEIMER, R. E., SACHS, B. D. GABAergic regulation of penile reflexes and copulation in rats. **Physiology and Behavior**, v. 42, n. 4, p. 351-357, 1988.

LIFSCHITZ, A.; Virkel, G.; Sallovitz, J.; Imperiale, F.; Pis, A.; Lanusse, C. Loperamide-induced enhancement of moxidectin availability in cattle. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 25, p. 111-120, 2002.

LÓPEZ, H. H.; OLSTER, D. H.; ETTENBERG, A. Sexual motivation in the male rat: the role of primary incentives and copulatory experience. **Hormones and Behavior**, v. 38, p. 176-185, 1999.

MACDONALD, R. L.; BARKER, J. L. Specific antagonism of GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian spinal cord neurons: a common mode of convulsant action. **Neurology**, v. 28, n. 4, p. 325-330, 1978.

MELIS, M. R., ARGOLAS, A. Dopamine and sexual behavior. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 19, p. 19-38, 1995.

MELIS, M. R., ARGOLAS, A. Reduction of drug-induced yawning and penile erection and of noncontact erections in male rats by the activation of GABAA receptors in the paraventricular nucleus: involvement of nitric oxide. **European Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 5, p. 852-860, 2002.

MELIS, M. R.; MAURI, A.; ARGOLAS, A. Apomorphine- and oxytocin- induced penile erection and yawning in intact and castrated male rats: effect of sexual steroids. **Reproductive Neuroendocrinology**, v. 59, p. 349-354, 1994.

MELIS, M. R., SPANO, M. S., SUCCU, S., ARGOLAS, A. Activation of gamma-aminobutyric acid (A) receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus reduces apomorphine-, N-methyl-D-aspartic acid- and oxytocin-induced penile erection and yawning in male rats. **Neuroscience Letters**, v. 281, n. 2-3, p. 127-130, 2000.

MEISEL, R. L.; SACHS, B. D. The physiology of male sexual behavior. In: KNOBILL, E.; NEILL, J. D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 2. ed. New York: Raven Press, 1994. v. 2, cap. 35, p. 3-105.

MERKX, J. Effects of castration and subsequent substitution with testosterone, dihydrotestosterone and oestradiol on sexual preference behavior in the male rat. **Behavioural Brain Research**, v. 11, p. 59-65, 1984.

MOHLER, H.; KNOFLACH, F.; PAYSAN, J.; MOTEJLEK, K.; BENKE, D.; LÜSCHER, B.; FRITSCHY, J. M. Heterogeneity of GABAA-receptors: cell-specific expression, pharmacology, and regulation. **Neurochemical Research**, v. 20, n. 5, p.631-636, 1995.

MOLENTO, M. B.; LIFSCHITZ, A.; SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C.; PRICHARD, R. Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. **Parasitology Research**, v. 92, n. 2, p. 121-127, 2004.

NJUE, A. I.; HAYASHI, J.; KINNE, L.; FENG, X. P.; PRICHARD, R. K. Mutations in the extracellular domains of glutamate-gated chloride channel  $\alpha 3$  and  $\beta$  subunits from ivermectin-resistant *Cooperia oncophora* affect agonist sensitivity. **Journal of Neurochemistry**, v. 89, p. p. 137-1147, 2004.

ONG, J.; KERR, D. I. B. Recent advances in GABA<sub>B</sub> receptors: from pharmacology to molecular biology. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 21, p. 111-123, 2000.

OGURUSU, T.; YANAGI, K.; WATANABE, M.; FUKAYA, M.; SHINGAI, R. Localization of GABA receptor  $\rho 2$  and  $\rho 3$  subunits in rat brain and functional expression of homooligomeric  $\rho 3$  receptors and heterooligomeric  $\rho 2\rho 3$  receptors. **Receptors and Channels**, v. 6, p. 463-475, 1999.

PAREDES, R.; AGMO, A. Stereospecific actions of baclofen on socialsexual behavior, locomotor activity and motor execution. **Psychopharmacology**, Berlin, v. 97, p. 358-364, 1989.

PEHEK, E. A.; THOMPSON, J. T.; HULL, E. M. The effects of intracranial administration of dopamine agonist apomorphine on penile reflexes and seminal emission in the rat. **Brain Research**, v. 500, p. 325-332, 1988.

QURESHI, G. A.; SÖDERSTEN, P. Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats. **Neuroscience Letters**, v. 70, p. 374-378, 1986.

RAGAZZINO, D.; WOODWARD, R. M.; MURATA, Y.; EUSEBI, F.; OVERMAN, L. E.; MILEDI, R. Design and *in vitro* pharmacology of a selective  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>C</sub> receptor antagonist. **Molecular Pharmacology**, v. 50, p. 1024-1030, 1996.

RAMPIN, O.; MONNERIE, R.; JÉRÔME, N.; McKENNA, K.; MAURIN, Y. Spinal control of erection by glutamate in rats. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 286, p. 710-718, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M. Transmissão química e ação das drogas no sistema nervoso central. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 351-369.

RHEES, R. W.; SHRYNE, J. E.; GORSKI, R. A. Termination of the hormone-sensitive period for differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. **Brain Research. Developmental Brain Research**, v. 52, n. 1-2, p. 17-23, 1990.

RITTA, M. N.; CALANDRA, R. S. Occurrence of GABA in rat testis and its effect on androgen production. **Advances in biochemical psychopharmacology**, v. 42, p. 291-297, 1986.

RITTA, M. N.; CAMPOS, M. B.; CALANDRA, R. S. Coexistence of gamma-aminobutyric acid type A and type B receptors in testicular interstitial cells. **Journal of Neurochemistry**, v. 56, n. 4, p. 1236-1240, 1991.

RODRIGUES-ALVES, P. S. B. **Efeitos da moxidectina no comportamento sexual de ratos machos**. 2003. 55 f. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RODRIGUES-ALVES, P. S. B.; LEBRUN, I.; FLORIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Moxidectin interference on sexual behavior, penile erection and hypothalamic GABA levels. of male rats. **Research in Veterinary Science**, 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed>>. Acesso em 07 jun. 2007.

SACHS, B. D.; GARINELLO, L. D. Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. **Brain Reserch**, v. 171, p. 152-156, 1979.

SACHS, B. D.; GARINELLO, L. D. Hypothetical spinal pacemaker regulating penile reflexes in rats: evidence from transaction of spinal cord and dorsal penile nerves. **Journal of Comparative Physiology and Psychology**, v. 94, p. 530-535, 1980.

SATOR, I. F.; SANTARÉM, V. A. Agentes empregados no controle de ectoparasitos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 567-583.

SERRA G.; FRATTA, W.; COLLU, M.; NAPOLI-FARRIS, L.; GESSA, G. L. Cycloheximide prevents apomorphine-induced yawning, penile erection and genital grooming in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 86, n. 2, p. 279-282, 1982.

SCHAEFFER, J. M.; HAINES, H. W. Avermectin binding in *Caenorhabditis elegans*: a two-state model for the avermectin binding site. **Biochemical pharmacology**, v. 38, p. 2329-2338, 1989.

SHOOP, W. L.; MROZIK, H.; FISHER, M. H. Structure and activity of avermectins and milbemycons in animal health, **Veterinary Parasitology**, v. 59, p. 139-159, 1995.

SILVA, M. R. P.; OLIVEIRA, C. A.; FELICIO, L. F.; NASELLO, A. G.; BERNARDI, M. M. Perinatal treatment with picrotoxin induces sexual, behavioral, and neuroendocrine changes in male rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 60, n. 1, p. 203-208, 1998.

SÖDERSTEN, P. Effects of anti-oestrogen treatment of neonatal male rats on Lordosis behaviour and mounting behaviour in the adult. **Journal of Endocrinology**, v. 76, p. 241-249, 1978.

SÖDERSTEN, P.; ENEROTH, P. Neonatal treatment with antioestrogen increases the diurnal rhythmicity in the sexual behaviour of adult male rats. **Journal of Endocrinology**, v. 85, p. 331-339, 1980.

SÖDERSTEN, P.; ENEROTH, P.; HANSSON, T.; MODE, A.; JOHANSSON, D.; NÄSLUNG, B.; LIANG, T.; GUSTAFSSON, J. A. Activation of sexual behavior in castrated rats: the role of estradiol. **Journal of Endocrinology**, v. 111, p. 455-462, 1986.

SUCCU, S.; MASCIA, M. S. MELIS, T., MELIS, M. R.; DEGHENGI, R. L.; ARGIOLAS, A. Activation of GABA<sub>A</sub> and opioid receptors reduce penile erection induced by hexarelin peptides. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 76, p. 563-570, 2003.

TAKIGUCHI, Y.; MISHIMA, H.; OKUDA, M.; TERAOKA, M. Milbemycons, a new family of macrolide antibiotics: fermentation, isolation and physico-chemical properties. **Journal of Antibiotics**, v. 33, p. 1120-1127, 1980.

TEPPER, J. M.; MARTIN, L. P.; ANDERSON, D. R. GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition of rat substantia nigra dopaminergic neurons by *pars reticulata* projection neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 3092-3103, 1995.

TRACY, J. W.; WEBSTER JR., L. T. Fármacos usados no tratamento das helmintíases. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W.; GOODMAN



GILMAN, A. (Ed). **Goodman & Gilman, as bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. cap. 42, p. 746-748.

VEGA-MATUSZCZYK, J.; APPA, R. S.; LARSSON, K. Age-dependent variations in the sexual preference of male rats. **Physiology and Behavior**, v. 55, p. 827-830, 1994.

WEBER, D. N. Mechanisms of behavioral toxicology: an integrate approach. **American Zoologist**, v. 37, p. 343-345, 1997.

WHITE, J. H.; WISE, A.; MAIN, M. J.; GREEN, A.; FRASER, N. J.; DISNEY, G. H.; BARNES, A. A.; EMSON, P.; FOORD, S. M. Heterodimerization is require for the formation of a functional GABA<sub>B</sub> receptor. **Nature**, v. 39, p. 679-682, 1998.

WHITING, P. J. GABA<sub>A</sub> receptor subtypes in the brain: a paradigm for CNS drug discovery? **Drug Discovery Today**, v. 8, p. 445-450, 2003.

WINDELS, F.; KIYATKIN, E. A. GABAergic mechanisms in regulating the activity state of substantia nigra pars reticulata neurons. **Neuroscience**, v. 140, p. 1289-1299, 2006.

YUAN, H.; YAMADA, K.; INAGAKI, N. Multiminute oscillations in mouse substantia nigra pars reticulata neurons in vitro. **Neuroscience Letters**, v. 355, p.136-140, 2004.

YUNG, K. K.; BOLAM, J. P.; SMITH, A. D.; HERSCH, S. M.; CILLAX, B. J.; LEVEY, A. L. Mmmunocytochemical localization of D1 and D2 dopamine receptors in basal ganglia of the rat: light and electron microscopy. **Neuroscience**, v.65, p. 709-730, 1995.

ZARRINDAST, M. R., FARAHVASH, H.. Effects of GABA-ergic drugs on penile erection induced by apomorphine in rats. **Psychopharmacology**, v. 115, n. 1-2, p. 249-253, 1994.