

Roteiro de Aula-Prática

Efeitos Macroscópicos da Castração sobre a Hipófise e Glândulas Acessórias de Ratos

OBJETIVO DA AULA:

Para o estudo sobre uma dada função glandular, classicamente remove-se a referida glândula e observa-se seu efeito. Outra forma de avaliação trata-se do preparo do homogeneizado do tecido glandular, seguido de sua administração no animal e observação dos efeitos. Uma vez identificada no homogeneizado de uma glândula a sua atividade hormonal, a substância responsável pela atividade pode ser isolada/purificada e sua estrutura química determinada. Os estudos também podem usar a administração do hormônio conhecido no animal sem a glândula, seguindo observação de efeitos.

Nesta aula, utilizaremos a técnica de castração (remoção dos testículos), assim como, administração de testosterona exógena para verificar os efeitos macroscópicos deste hormônio como um exemplo de controle endócrino da reprodução em mamíferos.

PROCEDIMENTOS:

1ª Etapa: **Preparação do animal e cirurgia**

Animal experimental: Rato albino adulto (*Rattus norvegicus*).

Cirurgia:

- 1- Anestésiar os animais com injeção intraperitoneal de mistura de quetamina e xilazina. A dose da mistura deve ser calculada com base na concentração dos compostos e no peso do animal;
- 2- Prender o rato em decúbito dorsal ("de costas") na mesa operatória (com *lastex* e alfinetes) enquanto anestesiado;
- 3- Proceder à desinfecção da bolsa escrotal utilizando álcool etílico 70%;
- 4- Com tesoura, faça uma incisão (0,5 a 1,0 cm) na linha mediana da bolsa escrotal (terço médio);

- 5- Divulsionar os tecidos das camadas subjacentes, até exposição da túnica albugínea de um testículo;
- 6- Pressionar o testículo contra a abertura cirúrgica; exteriorizá-lo juntamente com um segmento do cordão espermático; fazer a ligadura ("amarre") deste cordão com linha e seccioná-lo distalmente. Ajustar o coto proximal na bolsa escrotal;
- 7- Proceder de maneira idêntica para extirpar o testículo contralateral;
- 8- Suturar a incisão e friccionar álcool 70% na área para desinfecção.

Observação: O procedimento cirúrgico deverá ser realizado em 4 animais, sendo:

- 2 animais orquidectomizados bilateralmente (retirada dos 2 testículos)
- 1 animal orquidectomizado unilateralmente (retirada de apenas 1 testículo)
- 1 animal controle, que será submetido ao estresse da cirurgia, porém não terá os testículos retirados (a bolsa escrotal será aberta e a incisão suturada).

Após as cirurgias, os animais devem ficar em gaiolas no biotério, ou local equivalente, por 1 semana recebendo água e comida à vontade. Apenas um dos animais castrados bilateralmente receberá reposição hormonal, ou seja, receberá testosterona. A dose de testosterona deve ser calculada considerando-se as informações presentes na bula, a solução a ser administrada, a concentração de testosterona circulante em sangue de ratos e o peso do animal.

2ª Etapa: Eutanásia e verificação dos resultados

- 1- Transcorridos de 7 a 15 dias (tempo adequado para o aparecimento dos efeitos da castração), faça a eutanásia dos animais com uma dose letal de tiopental, calculada com base na concentração do barbitúrico e no peso do animal (consultar Diretriz Brasileira de Eutanásia ou guia de relevância equivalente);
- 2- Prenda o animal novamente em decúbito dorsal, transfixando suas extremidades com alfinetes;
- 3- Proceda à laparotomia, executando uma incisão mediana na parede abdominal, desde o púbis até o externo, assim como uma incisão transversal, no terço médio da parede;
- 4- Localize: vesículas seminais e próstata.

DISCUSSÃO DA EXPERIMENTAÇÃO:

Sabe-se que a função endócrina das gônadas (testículos e ovários) é regulada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e que, além de realizar funções endócrinas sobre as gônadas, também desempenham uma função exócrina (gametogênese). Nesta aula, nosso objetivo foi analisar a função endócrina das gônadas masculinas (testículos) em ratos albinos adultos. Para tanto, foram utilizados quatro grupos amostrais, sendo um grupo castrado bilateralmente, outro castrado bilateralmente com reposição de testosterona, o terceiro grupo

foi castrado unilateralmente e o grupo controle sofreu o processo de incisão no saco escrotal (processo cirúrgico), porém não teve nenhum testículo removido (Fig. 1).

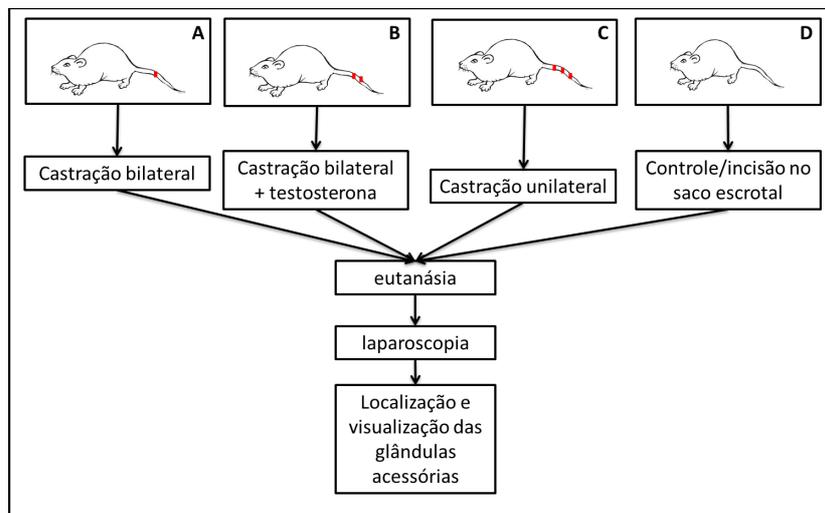


Fig. 1: Desenho experimental. Nas figuras A, B, C e D estão representados os grupos amostrais com as devidas marcações indicadas durante o vídeo. (A) Rato castrado bilateralmente - marcado com apenas uma lista no rabo, (B) Rato castrado bilateralmente com reposição de testosterona exógena - marcado com duas listas no rabo, (C) Rato castrado um unilateralmente - marcado com três listas no rabo e (D) Rato controle sem castração – sem marca no rabo.

Decorrido o período necessário para aparecerem os efeitos da castração, os animais foram eutanasiados e foi realizada uma laparoscopia para visualizar as vesículas seminais e próstata. Durante o vídeo foi comparado o tamanho das glândulas acessórias dos demais grupos com o grupo controle e entre os animais castrado bi e unilateralmente. O animal castrado bilateralmente apresentou uma nítida diminuição no tamanho da sua vesícula seminal e próstata em relação ao animal controle (Fig. 2 A). Para averiguar se este resultado está relacionado com a ausência dos testículos, utilizou-se um rato castrado bilateralmente, mas com administração de testosterona exógena (Fig. 2 B). Não foi observada diferença no tamanho das glândulas acessórias do animal controle e do que recebeu testosterona exógena. Portanto, a involução da próstata e da vesícula seminal observadas no animal da Fig. 2 A foi decorrente da ausência na produção endógena e secreção de testosterona.

Por outro lado, o grupo castrado unilateralmente (Fig. 2 C) não apresentou alteração no tamanho da próstata e da vesícula seminal quando comparado ao controle. Isso ocorre porque o testículo remanescente consegue compensar a produção de testosterona, ou seja, aumenta a produção deste hormônio a ponto de suprir a falta do outro testículo.

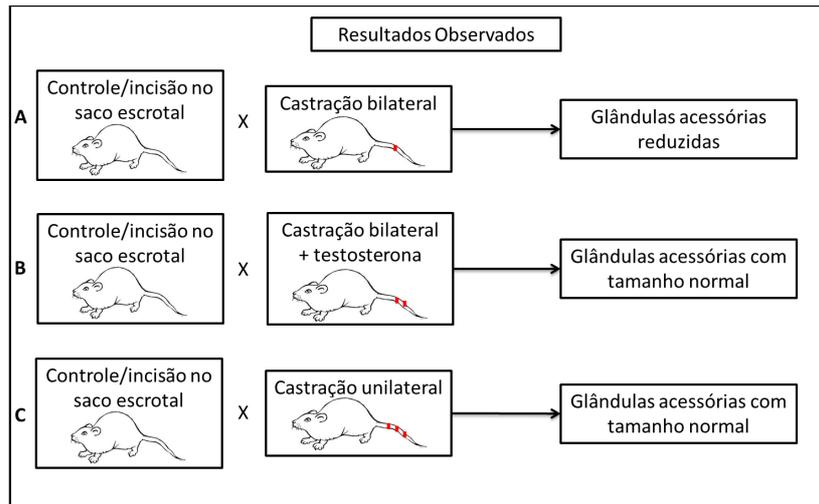


Fig. 2: Comparação do tamanho das glândulas acessórias masculinas entre os diferentes grupos amostrais e o controle. (A) Grupo controle X Rato castrado bilateralmente, (B) Grupo controle X Rato castrado bilateralmente com reposição de testosterona exógena e (C) Grupo controle X Rato castrado unilateralmente.

A testosterona, sintetizada nas Células de Leydig dos testículos, é responsável por induzir o aumento das glândulas acessórias durante a maturação sexual e estimular a síntese do fluido seminal produzido por essas glândulas. Esta aula consegue exemplificar a ação endócrina da testosterona e ressaltar a importância deste hormônio no desenvolvimento do sistema reprodutor masculino. Além disso, demonstra a base de uma experimentação para comprovação de regulação endócrina em um animal.